Agilent ChemStation

Description de votre Chemstation

Agilent Technologies

Avertissements

© Agilent Technologies, Inc. 2004, 2005-2008

Conformément aux lois nationales et internationales relatives à la propriété intellectuelle, toute reproduction totale ou partielle de ce manuel sous quelque forme que ce soit, par quelque moyen que ce soit, voie électronique ou traduction, est interdite sans le consentement écrit préalable de la société Agilent Technologies, Inc.

Référence du manuel

G2070-93125

Edition

07/08

Imprimé en Allemagne

Agilent Technologies
Hewlett-Packard-Strasse 8
76337 Waldbronn

Révision du logiciel

Ce guide correspond aux révisions B.04.xx du logiciel Agilent ChemStation, où xx désigne des numéros de révisions mineures du logiciel sans influence sur l'exactitude technique de ce guide.

Garantie

Les informations contenues dans ce document sont fournies "en l'état" et pourront faire l'objet de modifications sans préavis dans les éditions ultérieures. Dans les limites de la législation en vigueur, Agilent exclut en outre toute garantie, expresse ou implicite, quant à ce manuel et aux informations contenues dans ce dernier, notamment, mais sans s'y restreindre, toute garantie marchande et aptitude à un but particulier. En aucun cas, Agilent ne peut être tenu responsable des éventuelles erreurs contenues dans ce document, ni des dommages directs ou indirects pouvant découler des informations contenues dans ce document, de la fourniture, de l'usage ou de la qualité de ce document. Si Agilent et l'utilisateur ont souscrit un contrat écrit distinct dont les conditions de garantie relatives au produit couvert par ce document entrent en conflit avec les présentes conditions, les conditions de garantie du contrat distinct se substituent aux conditions stipulées dans le présent document.

Licences technologiques

Le matériel et le logiciel décrits dans ce document sont protégés par un accord de licence et leur utilisation ou reproduction sont soumises aux termes et conditions de ladite licence.

Limitation des droits

L'utilisation du logiciel dans le cadre d'un contrat principal ou de sous-traitance avec le Gouvernement américain est soumise à la réglementation fédérale des Etats-Unis régissant les logiciels informatiques commerciaux (DFAR 252.227-7014, juin 1995) ou les produits commerciaux (FAR 2.101(a)) ou les logiciels informatiques sous licences (FAR 52.227-19, juin 1987) ou toute réglementation ou clause de contrat équivalente. L'utilisation, la duplication ou la publication de ce logiciel est soumise aux termes de la licence commerciale standard délivrée par Agilent Technologies. Conformément à la directive FAR 52.227-19(c)(1-2) (juin 1987), les droits d'utilisation accordés aux départements et agences rattachés au Gouvernement américain sont limités aux termes de la présente limitation des droits. Les droits d'utilisation accordés au Gouvernement américain dans le cadre des données techniques sont limités conformément aux directives FAR 52.227-14 (juin 1987) ou DFAR 252.227-7015 (b)(2) (novembre 1995).

Mentions de sécurité

ATTENTION

Une mention **ATTENTION** signale un danger. Si la procédure, le procédé ou les consignes ne sont pas exécutés correctement, le produit risque d'être endommagé ou les données d'être perdues. En présence d'une mention **ATTENTION**, vous devez continuer votre opération uniquement si vous avez totalement assimilé et respecté les conditions mentionnées.

AVERTISSEMENT

Une mention AVERTISSEMENT signale un danger. Si la procédure, le procédé ou les consignes ne sont pas exécutés correctement, les personnes risquent de s'exposer à des lésions graves. En présence d'une mention AVERTISSEMENT, vous devez continuer votre opération unique-

Dans ce guide...

Ce guide décrit les différents concepts du logiciel Agilent ChemStation. Il a pour objectif de vous aider à mieux comprendre son fonctionnement.

Pour plus d'informations sur l'utilisation du logiciel ChemStation, reportez-vous au système d'aide et au didacticiel en ligne.

1 Fonctionnalités du logiciel Agilent ChemStation

Ce chapitre décrit les principaux composants et fonctionnalités du logiciel ChemStation.

2 Méthodes

Ce chapitre décrit les méthodes et leur utilisation.

3 Acquisition de données

Ce chapitre décrit entre autres l'acquisition de données, les fichiers de données et le journal.

4 Intégration

Ce chapitre décrit les concepts d'intégration des algorithmes d'intégration de ChemStation. Il décrit l'algorithme d'intégration, l'intégration et l'intégration manuelle.

5 Quantification

Ce chapitre décrit la procédure de quantification de ChemStation. Il détaille les calculs d'aire (%) et de hauteur (%), le calcul d'étalonnage externe (ESTD), d'étalonnage interne (ISTD), de pourcentage normalisé et la quantification des pics non identifiés.

6 Identification des pics

Ce chapitre décrit les concepts de l'identification des pics.

7 Étalonnage

Ce chapitre décrit les fonctionnalités d'étalonnage dans ChemStation.

8 Automatisation

Ce chapitre décrit les principes de l'automatisation. Il décrit l'utilisation de séquences dans ChemStation, le processus d'analyse d'une séquence et la personnalisation des séquences.

9 Révision, retraitement des données et révision par lot

Ce chapitre décrit les possibilités de révision des données et de retraitement de données de séquence. Il décrit également les concepts de révision par lot, configuration par lot, fonctions de révision et génération de rapports.

10 Utilisation des rapports ChemStation

Ce chapitre décrit la notion de rapport. Il contient des informations concernant les rapports de résultats, les résultats quantitatifs, les styles et la destination des rapports, et les rapports récapitulatifs de séquence.

11 Evaluation de l'aptitude du système

Ce chapitre décrit les fonctions de ChemStation permettant d'évaluer les performances de l'instrument d'analyse, avant son utilisation pour les analyses d'échantillon, et de la méthode d'analyse avant son fonctionnement dans des conditions standard. Il décrit également la vérification des performances d'analyse avant et pendant les analyses de routine.

12 Vérification du système

Ce chapitre décrit la fonction de vérification et les fonctionnalités BPL de la ChemStation.

Sommaire

1 Fonctionnalités du logiciel Agilent ChemStation 9

Description générale 11
Matériel requis pour ChemStation 14
À propos du logiciel ChemStation 15
Commande des instruments 33
Documentation 35
Structure de répertoires ChemStation 37
Panneau de navigation 41

2 Méthodes 43

Qu'est-ce qu'une méthode ? 45
Parties d'une méthode 46
Etat des méthodes 49
Création de méthodes 52
Modification des méthodes 53
Structure de répertoire des méthodes 55
Pendant l'exécution d'une méthode 56
Récapitulatif de l'exécution d'une méthode 62

3 Acquisition de données 65

Qu'est-ce que l'acquisition de données ? 66
Fichiers de données 67
Moniteurs en temps réel 69
Journal 70
Informations sur l'état 71

4 Intégration 73

Qu'est-ce que l'intégration ? 75
Description 76
Les algorithmes d'intégration de la ChemStation 77
Description générale 79
Terminologie 84

Principe de fonctionnement 86
Identification d'un pic 87
Attribution de la ligne de base 96
Mesure d'aire de pic 109
Événements d'intégration 112
Intégration manuelle 118

5 Quantification 121

Définition 122
Calculs de la quantification 123
Facteurs de correction 124
Procédures de calcul non étalonné 126
Procédures de calcul étalonnées 127
Calcul d'étalonnage externe 128
Calcul normalisé 131
Calcul ISTD 132

6 Identification des pics 137

En quoi consiste l'identification des pics ? 138
Règles de correspondance des pics 139
Types d'identification des pics 140
Temps de rétention/migration absolu 142
Temps de rétention/migration corrigés 144
Qualificateurs de pic 146
La procédure d'identification 149

7 Étalonnage 151

Terminologie 152
Table d'étalonnage 153
Courbe d'étalonnage 154
Échantillons inconnus 156
Types d'étalonnage 157
Étalonnage groupé 164
Sommation des pics 165
Réétalonnage 166

8 Automatisation 171

Qu'est-ce que l'automatisation ? 173
Définition d'une séquence et d'un modèle de séquence 174
Boîte de dialogue Preferences (Préférences) - Onglet Sequence (Séquence) 175
Paramètres de séquence 177
Table de séquence 179
Création de séquences(séquences et modèles de séquence) 180
Utilisation de séquences (séquences et modèles de séquence) 182
Fichier journal de séquence 186
Procédure d'analyse de séquence 187
Structure d'un fichier de données de séquence (Unique Folder Creation ON [Mode Création de dossiers uniques activé]) 189
Attribution d'un nom à des fichiers de données dans une séquence 190
Fonctionnement post-séquence 193
Réétalonnage automatique 195
Spécification de réétalonnages 196
Types de séquence 199
Séquences d'étalonnage explicite 200
Séquences d'étalonnage cyclique à un niveau 201
Séquences d'étalonnage cyclique à plusieurs niveaux 202
Utilisation simultanée d'étalonnages explicites et cycliques 206
Séquences d'étalonnage cyclique avec encadrement 208
Séquences de réétalonnage cyclique utilisant plusieurs flacons qui contiennent la même dilution d'étalon 212

9 Révision, retraitement des données et révision par lot 217

Table de navigation de la vue Data Analysis (Analyse de données) 218
Définition de la révision par lot 224
Activation de la fonctionnalité de révision par lot avec l'option d'intégration ChemStation OpenLAB 225
Configuration de lot 226
Fonctions de révision 229
Génération de rapports par lot 230

10 Utilisation des rapports ChemStation 231

Qu'est-ce qu'un rapport ? 232
Édition des résultats 233

Résultats quantitatifs 235
Valeurs de champ personnalisé de génération de rapport 237
Styles de rapport 238
Autres paramètres de style de rapport 241
Destination du rapport 242
Rapport récapitulatif de séquence 244

11 Evaluation de l'aptitude du système 249

Définition du bruit 253
Calcul de la symétrie des pics 258
Calculs et formules d'aptitude système 260
Définitions générales 261
Définition des tests de performances 262
Définitions de la reproductibilité 268
Accès au nombre en double précision stocké en interne 273

12 Vérification du système 277

Vues Verification (Vérification) et Diagnosis (Diagnostic) 278
Registre GLPsave 282
Fonction de test DAD 284

1 Fonctionnalités du logiciel Agilent ChemStation

Description générale 11
- Modules d'instrument supplémentaires 12
- Modules additionnels d'évaluation des données 12
- Produits uniquement destinés à l'évaluation des données 13

Matériel requis pour ChemStation 14

À propos du logiciel ChemStation 15
- Système d'exploitation 15
- Méthodes et séquences 15
- Configuration du système 15
- Modèle de données 16
- Conventions de noms de fichiers 16
- Interface utilisateur du logiciel 18
- Acquisition de données 20
- Analyse de données — Affichage 21
- Analyse de données — Intégration 22
- Analyse de données — Quantification 22
- Analyse de données — Révision, retraitement et révision par lot 22
- Analyse de données — Rapports standard 23
- Analyse de données — Rapports spécifiques 24
- Utilitaires et compatibilité 27
- Personnalisation 27
- Automatisation 27
- Bonnes pratiques de laboratoire (BPL) 29

Commande des instruments 33
- Fonctionnement en réseau 33

Documentation 35

Structure de répertoires ChemStation 37
Panneau de navigation 41
Boutons de navigation 41
Explorateur ChemStation 41

Ce chapitre décrit les principaux composants et fonctionnalités du logiciel ChemStation.

Description générale

Les ChemStations pour CPG, CPL, CPL/SM, EC et A/N sont des modules de contrôle d'instrument, d'acquisition et d'évaluation de données pour

- Chromatographes en phase gazeuse Agilent 7890A,
- Chromatographes en phase gazeuse Agilent 6890N, 6890Plus et 6890A,
- Chromatographes en phase gazeuse Agilent 6850,
- Chromatographe en phase gazeuse série 5890 II
- Modules et systèmes Agilent série 1100/1200 pour CPL,
- CPL/SM Agilent série 1100,

  Single Quad CPL/SM Agilent série 6100,
- CPL série 1090,
- Détecteurs à fluorescence (FLD) 1046 et ECD 1049
- Système d'électrophorèse capillaire (EC) Agilent
- Système EC/SM Agilent
- Interface analogique/numérique bi-voie Agilent 35900E.

Ce logiciel est conçu pour être installé sur un PC compatible IBM fonctionnant sous Microsoft® Windows XP Professionnel.

Il se présente sous la forme d'une ChemStation de base mono-instrument, qui se décline en cinq versions. Toutes les versions incluent les fonctionnalités de contrôle d'instruments, d'acquisition et d'analyse de données (intégration, quantification et création de rapports), d'automatisation et de personnalisation pour un seul instrument d'analyse. Un instrument se définit comme fonctionnant sur une base de temps unique, capable de collecter simultanément des données émanant de plusieurs détecteurs. Voici les cinq versions disponibles :

- ChemStation mono-instrument pour systèmes de chromatographie en phase gazeuse (CPG), référence produit G2070BA,
- ChemStation mono-instrument pour systèmes de chromatographie en phase liquide (CPL), référence produit G2170BA,
- ChemStation mono-instrument pour systèmes d'électrophorèse capillaire (EC), référence produit G1601BA,

- ChemStation mono-instrument pour systèmes de couplage de chromatographie en phase liquide/détecteur de masse (CPL/SM), référence produit G2710BA, et
- ChemStation analogique/numérique (A/N) mono-instrument pour l'acquisition des données analogiques avec contrôle d'événements externes, référence produit G2072BA.

Pour optimiser les capacités de contrôle d'instrument du logiciel ChemStation, il convient d'installer des modules supplémentaires d'acquisition et de contrôle des données d'instrument afin de créer des configurations intégrant plusieurs instruments et techniques.

Modules d'instrument supplémentaires

Modules d'instrument supplémentaires :

- module supplémentaire de contrôle d'instrument et d'acquisition des données CPG, référence produit G2071BA,
- module supplémentaire de contrôle d'instrument et d'acquisition de données CLHP, référence produit G2171BA,
- module supplémentaire de contrôle d'instrument et d'acquisition des données EC, référence produit G2172BA,
- module de contrôle d'instrument CPL/SM, d'acquisition de données et module de mise à niveau pour l'évaluation de données, référence produit G2715BA, et
- module supplémentaire d'acquisition des données analogiques, référence produit G2073BA.

Modules additionnels d'évaluation des données

Enrichissez les capacités de traitement des données du logiciel ChemStation grâce aux modules additionnels de traitement de données conçus pour des applications spécialisées :

- module d'évaluation spectrale Spectral Evaluation Module de détecteur à barrette de diodes (DAD), référence produit G2180BA,

- module supplémentaire de base de données de résultats et d'organisation d'échantillons ChemStore, référence produit G2181BA, et
- module supplémentaire d'évaluation des données de biologie analytique et de déconvolution CPL/DDM, référence produit G2720BA, pour utilisation exclusive avec le module CPL/SM ChemStation.

Il est possible de configurer jusqu'à quatre instruments de chromatographie sur chaque ChemStation. Si des instruments équipés de détecteurs spectroscopiques (détecteurs à barrette de diodes pour chromatographie en phase liquide ou électrophorèse capillaire) sont configurés, le nombre de détecteurs à barrette de diodes pris en charge sur une ChemStation est limité à deux et le nombre d'instruments pris en charge est limité à trois. Lorsque vous utilisez la ChemStation pour CPL/SM afin de contrôler le module CPL/SM Agilent série 1100/1200 (éventuellement, avec un module CPL Agilent série 1100/1200 ou CPL Agilent 1090 série II), le PC ne prend en charge aucun autre instrument.

Produits uniquement destinés à l'évaluation des données

Il existe également trois produits utilisés uniquement pour l'évaluation des données et qui ne peuvent pas être configurés avec un instrument analytique. Ces produits sont destinés à l'évaluation des données dans un environnement bureautique :

- ChemStation pour l'évaluation des données LC 3D, référence G2190BA, permet l'évaluation des données spectrales d'un détecteur à barrette de diodes et les fonctionnalités d'évaluation des données de ChemStation, et
- ChemStation pour l'évaluation des données LC/MSD, référence G2730BA, comporte les fonctionnalités d'évaluation des données spectrales d'un détecteur à barrette de diodes, d'évaluation de données de spectrométrie de masse, ainsi que les fonctionnalités de base d'évaluation des données de ChemStation.

Matériel requis pour ChemStation

Pour plus d'informations sur le matériel requis pour ChemStation, reportez-vous au manuel *Installation de votre ChemStation*.

À propos du logiciel ChemStation

Système d'exploitation

Le logiciel ChemStation requiert le système d'exploitation Microsoft Windows XP Professionnel SP3 ou Windows Vista Professionnel SP1.

La fonction tableur du logiciel ChemStation requiert MicroSoft Excel.

Méthodes et séquences

La méthode d'analyse décrit de manière détaillée la procédure d'une séparation spécifique. Elle comporte tous les paramètres associés aux activités de contrôle d'instrument, d'acquisition et d'évaluation des données, notamment l'intégration, la quantification et la génération de rapports. Le système peut être programmé pour l'acquisition de données d'une série d'échantillons avec différentes méthodes. Le fichier de commande pour ce type d'opération est appelé "séquence". Une séquence comprend les informations de chaque échantillon, les références aux méthodes appropriées et les spécifications de de réétalonnage automatique. Pour plus d'informations sur les méthodes et les séquences, voir la section « Automatisation », page 27 et à l'aide en ligne.

Configuration du système

Le système instrumental est configuré à l'aide du programme d'édition de configuration. Il est possible de définir les instruments, leurs adresses GPIB ou LAN, les répertoires utilisés pour les données, séquences et méthodes et les définitions de couleur pour le logiciel ChemStation. Pour plus d'informations, consultez les manuels fournis avec les modules ChemStation additionnels.

Modèle de données

Le logiciel ChemStation est conçu sur un modèle de données reposant sur une structure de mémoire appelée registre. Les registres sont des structures polyvalentes capables de contenir des informations et des données d'analyse à la fois pour les valeurs en deux dimensions (par exemple, temps/intensité) et en trois dimensions (par exemple, temps/intensité/longueur d'onde).

Le logiciel ChemStation fournit des commandes et des fonctions visant à construire, à développer, à extraire les registres et, à condition de ne pas affecter les données principales, à modifier ces registres. Pour plus d'informations, consultez le *guide de macroprogrammation* disponible dans l'aide en ligne.

Conventions de noms de fichiers

Conventions de noms

Les règles ci-dessous permettent à la ChemStation de créer et traiter des noms valides de fichiers et de répertoires :

Les caractères suivants ne sont pas autorisés dans les noms de fichiers ou de répertoires :

- < > : " / \ | @ % * ? espaces, etc.

Si le dossier d'installation contient ces caractères, la copie de retraitement n'est pas lancée. En outre, si le caractère % est utilisé dans le dossier d'installation, certains raccourcis Agilent ChemStation B.04.01 ne fonctionnent pas correctement.

Autres règles appliquées :

Tableau 1 Caractères restreints

Paramètre ChemStation	Character
Noms de fichiers de méthode :	% et . (point décimal) ne sont pas autorisés
Noms de fichiers de données (préfixe/compteur) :	les espaces ne sont pas autorisés
Sous-répertoires de données et sous-répertoires de séquences :	[] + = ; , . (point décimal) et espaces non autorisés

Les noms de périphériques suivants ne peuvent pas être utilisés comme nom de fichier :

- CON, PRN, AUX, NUL
- COMx (x étant un nombre compris entre 1 et 9)
- LPT1x (x étant un nombre compris entre 1 et 9)

Évitez aussi d'utiliser ces noms suivis d'une extension (par exemple Nul.txt).

REMARQUE Des systèmes d'exploitation anglais, japonais et chinois ont été utilisés pour tester les conventions de noms. Agilent ne peut fournir aucune garantie quant à la prise en charge de systèmes d'exploitation non anglais et de leurs caractères spéciaux.

Longueur maximale des noms de fichiers et de sous-répertoires ChemStation

Les spécifications de noms de fichiers et de sous-répertoires utilisées dans Agilent ChemStation sont :

Tableau 2 Longueur maximale des noms de fichiers et de sous-répertoires ChemStation

Fichier/sous-répertoire/chemin	Longueur de saisie maximale	Ajout automatique	Exemple
Nom de fichier	38	. .D	Demodad.d
Nom de fichier avec préfixe/compteur	15	. .D	longname000001.d
Méthode Séquence Hyperséquence Bibliothèques Modèles de rapports personnalisés	40	. M . S . HYP . UVL . FRP	def_lc.m def_lc.s def_lc.hyp demodad.uvl areapct.frp
Sous-répertoire de fichiers de données	40		démo (dans les informations d'échantillon)
Sous-répertoire de séquence de données	40		démo (dans les paramètres de séquence)

Tableau 2 Longueur maximale des noms de fichiers et de sous-répertoires ChemStation

Fichier/sous-répertoire/chemin	Longueur de saisie maximale	Ajout automatique	Exemple
Nom du conteneur de données de séquence	40		test_date_heure (création à l'aide des préférences de séquence)
Chemin de données Chemin de méthode Chemin de séquence Chemin d'hyperséquence Chemin de bibliothèque Chemin de modèle de rapport personnalisé	100	100	c:\chem32\1\data c:\chem32\1\methods c:\chem32\1\sequence c:\chem32\1\hyper c:\chem32\speclib c:\chem32\repstyle

REMARQUE Les barres d'outils affichant les noms de fichiers de données/séquences/méthodes ont été redimensionnées pour afficher jusqu'à 18 caractères.

Tous les journaux ChemStation affichent les messages système sous forme développée et les chaînes d'informations sont imprimées sur plusieurs lignes. Certains rapports, par exemple les rapports de séquences, peuvent tronquer les noms de fichiers pour faire tenir toutes les informations nécessaires sur le modèle de rapport.

Interface utilisateur du logiciel

L'interface utilisateur du logiciel ChemStation est composée de vues qui regroupent des fonctionnalités selon les tâches d'analyse classiques. Les trois vues standard suivantes sont incluses dans toutes les configurations du logiciel :

- la vue Method and Run Control (Contrôle de méthode et d'analyse), pour le contrôle et l'acquisition des données provenant de l'instrument,
- la vue Data Analysis (Analyse de données), pour la révision et la réévaluation des données acquises,

- la vue Report Layout (Mise en page de rapport), pour la conception de rapports spécifiques.

D'autres vues sont disponibles si des modules d'évaluation de données en option ont été installés ou pour certaines configurations d'instrument prenant en charge des procédures de vérification et de diagnostic. La vue ChemStation Companion permet aux opérateurs d'analyser des échantillons à partir d'un tableau préconfiguré convivial.

Le volet Navigation contient le bouton Navigation qui permet de basculer rapidement entre les vues ChemStation et l'Explorateur Chemstation à base d'arborescence. Le contenu de l'explorateur ChemStation dépend de la vue affichée et permet d'accéder aux différentes entités ChemStation.

Chaque vue est constituée d'un ensemble d'éléments standard d'interface utilisateur tels que des menus et des barres d'outils. La barre d'outils standard permet d'accéder rapidement aux informations communes de spécification du système telles que les méthodes et les séquences. La vue Method and Run Control (Contrôle de méthode et d'analyse) comporte une barre d'état système, une zone d'informations d'échantillon (qui peut être configurée pour des analyses individuelles ou automatisées) et un diagramme de l'interface d'instrument pour les configurations GC, CE et LC. Le diagramme d'interface d'instrument comprend des zones dynamiques permettant d'accéder rapidement aux paramètres des instruments, ainsi qu'une présentation graphique animée de l'état de chaque analyse en cours. Il est possible de désactiver le diagramme d'instrument s'il n'est pas nécessaire, afin d'économiser de la mémoire et d'autres ressources Windows.

La vue Data Analysis (Analyse de données) ajoute à la barre d'outils standard des modes d'analyse de données spécifiques (intégration, étalonnage, création de rapports, annotations, comparaison de signaux, etc.) ainsi que des modes spécialisés si les modules correspondants sont installés. Chacun de ces modes d'analyse est associé à des outils spécifiques.

La vue Report Designer (Concepteur de rapports) permet à l'utilisateur de configurer graphiquement la mise en page d'un style de rapport spécifique selon un processus graphique orienté objet. Elle utilise également un ensemble de barres d'outils spécifiques pour cette tâche.

Acquisition de données

Que le logiciel soit en cours d'exécution dans une fenêtre active ou réduit sous forme d'icône, l'écran indique le temps d'analyse écoulé, ainsi que l'état de l'instrument, qui fait l'objet d'un contrôle et d'une mise à jour permanents. Les transactions effectuées au cours de l'analyse, y compris les erreurs, ainsi que les conditions de l'instrument au début et à la fin de l'analyse, sont enregistrées dans le journal du système, dont un extrait est stocké avec chaque fichier de données.

Les conditions de l'instrument (débit, température, pression, composition des solvants pour chromatographes en phase liquide, etc.) peuvent être enregistrées et stockées avec chaque fichier de données. Il est possible d'afficher et de représenter graphiquement ces paramètres afin de confirmer la qualité de chaque analyse. La nature exacte des paramètres enregistrés dépend à la fois de la technique et des capacités de l'instrument configuré.

Au moins une fenêtre d'affichage permet de surveiller en temps réel les données acquises par l'instrument. Ces données s'affichent en unités de mesure réelles (par exemple, en mUA, en volts, en degrés ou en bars). Chaque fenêtre affiche des signaux de chromatographie/électrophorèse superposés ou des paramètres d'instrument, par exemple la pression. Le système offre la possibilité de régler et d'enregistrer les paramètres d'affichage par défaut, permettant ainsi aux utilisateurs de configurer les paramètres voulus comme paramètres par défaut de l'instrument. La fenêtre est dotée d'un zoom et le curseur permet d'afficher, à tout moment, une partie spécifique du signal d'acquisition.

Au cours d'une analyse, toutes les fonctionnalités du logiciel ChemStation peuvent être utilisées via la copie hors ligne. Lorsque l'acquisition est en cours, la fonction d'analyse des données est inaccessible depuis la session en ligne d'un instrument. Les données doivent donc être révisées dans la copie hors ligne.

Les utilisateurs qui souhaitent démarrer le traitement des données avant la fin de l'analyse doivent utiliser la fonction de capture d'écran. La capture, immédiatement disponible pour révision, doit s'effectuer dans la copie hors ligne des sessions de l'instrument.

La présentation des fenêtres affichant les informations d'état ou les signaux, y compris le schéma de l'interface d'un instrument, est enregistrée automatiquement.

Pour plus d'informations sur l'acquisition de données, reportez-vous à la section « Acquisition de données », page 65 et à l'aide en ligne.

Analyse de données — Affichage

La vue Data Analysis (Analyse de données) ajoute à la barre d'outils standard des fonctions d'analyse des données regroupées par tâches, notamment des boîtes à outils pour l'intégration, l'étalonnage, la création de rapports, les annotations et la comparaison de signaux. Voici les principales opérations graphiques possibles :

- sélection de l'affichage (à un ou plusieurs signaux) lors du chargement du chromatogramme/de l'électrophérogramme,
- superpositions du chromatogramme/de l'électrophérogramme à partir de différents échantillons,
- soustraction de deux chromatogrammes/électrophérogrammes,
- alignement graphique vertical ou horizontal des signaux pour une meilleure comparaison visuelle,
- projection en miroir ou inversion du signal pour une meilleure comparaison visuelle,
- fonctions graphiques de défilement et de zoom,
- réglage des attributs d'affichage, y compris la sélection de graduations, de lignes de base, d'axes, de temps de rétention/migration et de noms de composés (l'utilisateur peut aussi sélectionner la police des étiquettes de composés et de TR, régler la taille et l'orientation de l'affichage, choisir un affichage en mode séparé ou superposé et sélectionner des échelles),
- l'affichage du chromatogramme/de l'électrophérogramme peut inclure des superpositions graphiques des paramètres de l'instrument en fonction des capacités de l'instrument configuré,
- l'utilisateur peut ajouter de façon interactive des annotations personnalisées, mais aussi sélectionner la police, la taille, l'orientation et la couleur du texte (une fois définies, les annotations peuvent être graphiquement déplacées, modifiées ou supprimées),
- copie de l'écran dans le Presse-papiers Windows aux formats bitmap et métafichier,
- une fonction *mode de saisie* sert à afficher les valeurs des points de données dans les unités des détecteurs, et
- exportation des points numérisés de temps/d'intensité vers le Presse-papiers Windows.

Analyse de données — Intégration

L'algorithme d'intégration ChemStation est la deuxième version d'une nouvelle génération qui vise à plus de robustesse, de fiabilité et de simplicité d'utilisation.

Analyse de données — Quantification

Le mode d'étalonnage de la vue d'analyse des données permet l'affichage simultané des éléments suivants :

- signaux en cours d'étalonnage avec fenêtre des temps de rétention/migration du composé en cours,
- table d'étalonnage dont l'affichage peut être configuré à partir d'une sélection complète de paramètres d'étalonnage, et
- courbe du composé en cours d'étalonnage.

Toutes les fenêtres du mode d'étalonnage sont liées de sorte que toute modification apportée à l'une d'elles s'applique automatiquement aux autres. Ce mode permet de modifier et de sélectionner les données d'étalonnage sur le graphique.

La quantification repose sur différents calculs (%, % normalisé, étalon externe, % d'étalon externe, étalon interne et % d'étalon interne) visant l'aire ou la hauteur du pic. Les étalonnages peuvent être multiniveaux et inclure plusieurs définitions d'étalon interne. L'historique des étalonnages est enregistré automatiquement et peut servir à pondérer les calculs de réétalonnage.

Pour plus d'informations sur l'étalonnage et la quantification, reportez-vous à la section « Étalonnage », page 151.

Analyse de données — Révision, retraitement et révision par lot

Les deux boîtes à outils supplémentaires suivantes sont disponibles dans la vue Data Analysis (Analyse de données) :

- Table de navigation
- Révision par lot

La table de navigation permet de réaliser d'importantes opérations graphiques :

- Fonctionnalités standard de configuration de la table (tri, options de glisser-déposer, sélection de colonne, regroupement d'éléments, etc.) permettant de définir sa propre configuration de table de navigation,
- Fonctions accessibles via le bouton droit de la souris : chargement ou superposition d'un signal, exportation de données, impression de rapports,
- Révision des détails du signal en développant une ligne dans la table de navigation
- Révision des signaux et création de rapports ChemStation à partir des méthodes chargées ou de la méthode individuelle du fichier de données DA.M, par exemple pour réviser les événements d'intégration manuelle
- Retraitement des données de séquence (données de séquence acquises depuis le système ChemStation Rév. B.02.01 ou ultérieure).

Les principales opérations graphiques suivantes sont disponibles dans le cadre de la révision par lot :

- Définition de la révision et du retraitement automatiques ou manuels des fichiers de données (étalonnées)
- Réétalonnage de la table d'étalonnage
- Révision des tables de composés des méthodes étalonnées
- Création de rapports de lot spécifiques

Analyse de données — Rapports standard

Dans la fenêtre contenant les caractéristiques des rapports, vous pouvez sélectionner un ensemble standard de styles de rapports personnalisables pour les échantillons. Chaque type de rapport standard comprend des groupes d'informations standard et facultatives.

Pour plus d'informations sur les styles de rapports disponibles, reportez-vous à la section « Utilisation des rapports ChemStation », page 231.

Analyse de données — Rapports spécifiques

ChemStation comporte également des fonctionnalités avancées de génération de rapports pour les applications nécessitant des rapports plus spécifiques. (statistiques sur la qualité de séparation, analyse de tendance entre les échantillons, mises en page personnalisées, etc.).

Rapports de conformité du système

Les rapports de conformité du système permettent de présenter les paramètres de performances du système pour chaque analyse. Il existe trois variantes, ou styles, pour ces rapports.

Le **Standard Performance report** contient les paramètres des méthodes non étalonnées :

- temps de rétention/migration,
- facteur de capacité (k´),
- aire de pic,
- hauteur de pic,
- symétrie,
- largeur réelle du pic à mi-hauteur,
- efficacité en nombre de plateaux,
- résolution et
- sélectivité.

Pour les méthodes étalonnées, le nom et la quantité du composé remplacent les colonnes d'aire, de hauteur et de sélectivité.

L'en-tête du rapport comprend l'en-tête et le pied de page standard, un bloc d'informations d'échantillon, les paramètres de la colonne d'analyse et éventuellement un tracé du chromatogramme/électrophorégramme.

Le style **Performance and Noise style** comporte les mêmes éléments que le rapport de performances ainsi qu'une évaluation du bruit du signal, pour jusqu'à sept plages d'évaluation définies par l'utilisateur. Les paramètres de bruit sont présentés sous forme de rapports signal/bruit pour chaque pic ou composé étalonné et d'un tableau de bruit pour chaque signal. Chaque tableau de bruit comporte le bruit calculé par les méthodes 6 x écart type, pic à pic et ASTM, ainsi que la déviation et la dérive.

Le style **Extended Performance** ajoute des tracés de chaque pic individuel comportant les temps de début et de fin de pic, la largeur à mi-hauteur et la ligne de base. Ce style comporte les paramètres suivants, en plus de ceux définis dans les rapports de performances standard :

- aire, hauteur et quantité,
- asymétrie,
- excès,
- facteur de traîne USP,
- intervalle de temps entre les points de données et nombre de points de données sur le pic,
- moments statistiques (M0 à M4),
- largeur de pic à mi-hauteur, calculée par les méthodes réelle, 5 x écart type, tangentielle et de traîne et
- les rapports plateaux/colonne et plateaux/mètre calculés par les méthodes largeur de pic à mi-hauteur, 5 x écart type, tangentielle et statistique.

Les utilisateurs peuvent définir leurs propres plages d'évaluation et limites de bruit pour ces critères de performances. Les valeurs en dehors des limites définies par l'ute sont indiquées dans le rapport.

Pour plus d'informations sur les calculs de conformité du système, voir la section « Evaluation de l'aptitude du système », page 249.

Rapports récapitulatifs de séquence

Les rapports récapitulatifs de séquence sont générés après une série d'analyses automatisées. Ils peuvent aller d'un bref résumé des échantillons analysés à une analyse graphique détaillée de répétabilité ou de tendance de paramètres sélectionnés par l'utilisateur sur différents échantillons analysés par la même méthode.

Pour plus d'informations sur les rapports récapitulatifs de séquence, reportez-vous à l'aide en ligne et à la section « Rapport récapitulatif de séquence », page 244.

Rapports personnalisés

ChemStation comporte une vue Customized reporting design (Conception de rapport personnalisé) destinée aux utilisateurs qui souhaitent définir le contenu exact de leurs rapports. L'utilisateur configure graphiquement un

modèle de rapport pouvant comporter des informations générales sur les échantillons, ainsi que des informations relatives aux signaux, à l'intégration et aux résultats quantitatifs des analyses. Il est possible de définir chaque élément, par exemple du texte, des tableaux et des graphiques, les organiser en sections informatives et ajuster graphiquement leurs positions, tailles et orientations relatives. Les différentes sections peuvent également être ajoutées, supprimées, réorganisées et imbriquées.

Il est également possible de configurer les en-têtes et pieds de page qui apparaîtront sur chaque page, l'horodatage du rapport et la numérotation des pages au format *page x sur y*. Les informations du rapport peuvent comprendre n'importe quel paramètre ChemStation ou défini par l'utilisateur.

Une fois le rapport formaté, il peut être associé à une méthode particulière pour devenir le format de rapport par défaut pour ce type d'analyse spécifique.

Les rapports personnalisés peuvent être affichés à l'écran, imprimés ou enregistrés dans un fichier. Les rapports affichés à l'écran contiennent des graphiques.

Pour plus d'informations sur la mise en page des rapports, consultez l'aide en ligne.

Rapports de tableaux

Le logiciel ChemStation comporte une fonction de tableur. Lorsque cette fonctionnalité est installée et sélectionnée, l'utilisateur peut suivre automatiquement un paramètre particulier d'un composé chaque fois qu'une méthode est exécutée. Ces paramètres comprennent : la quantité, le facteur de réponse, le temps de rétention/migration et l'aire.

Pour plus d'informations sur les rapports personnalisés et les rapports de tableaux, consultez l'aide en ligne.

Utilitaires et compatibilité

Généralités

Le logiciel ChemStation permet d'importer et d'exporter des fichiers de données au format de chromatographie ANDI (ANalytical Data Interchange) publié par l'AIA (Analytical Instrument Association), version 1.0, copyright 1992. L'importation de données est prise en charge au niveau de conformité 1 (informations d'échantillon et données de signaux) et l'exportation de données au niveau de conformité 2 (informations d'échantillon, données de signaux et résultats d'intégration).

Le logiciel ChemStation comporte des commandes et des fonctions prenant en charge la norme DDE (échange dynamique de données) de la plate-forme Microsoft Windows, à la fois en tant que client DDE et en tant que serveur DDE. Cet ensemble de commandes permet d'établir et d'interrompre des connexions, de transférer des informations dans les deux sens et d'exécuter des fonctions à distance.

Personnalisation

Des commandes puissantes permettent de personnaliser ChemStation. Ces commandes peuvent être groupées de manière à exécuter automatiquement une fonction spécifique (le groupe ainsi constitué s'appelle une « macro »). Les utilisateurs qui créent des macros peuvent définir leurs propres variables, intégrer des constructions conditionnelles ou itératives, effectuer des E/S physiques (gestion de fichiers et interaction de l'utilisateur), imbriquer leurs macros et programmer et échanger des données avec d'autres applications MS-DOS ou Microsoft Windows.

Pour plus d'informations sur la personnalisation, reportez-vous au *Guide de programmation de macro* présenté sous forme d'aide en ligne.

Automatisation

ChemStation peut exécuter des séquences multiméthodes.

Il est possible de définir le jeu de paramètres de séquence, de manière à utiliser des fichiers générés automatiquement ou des fichiers numérotés séquentiellement avec un préfixe de 15 caractères maximum défini par l'utilisateur. Vous pouvez non seulement choisir d'exécuter des analyses complètes ou des séquences de retraitement de données uniquement, mais également sélectionner une série de commandes d'arrêt propres à une technique ou une macro d'arrêt définie par l'utilisateur qui s'exécute à la fin de la séquence (à la suite d'une erreur ou une fois toutes les analyses terminées).

La table de séquence (ou liste d'analyses à effectuer) est créée dans une interface utilisateur comparable à celle d'un tableur permettant de spécifier le numéro des flacons, le nom des échantillons, les méthodes d'analyse, les paramètres de quantification des échantillons, notamment la quantité d'échantillon, un facteur de multiplication et de dilution, une spécification d'étalonnage, les paramètres d'échange de données LIMSID et le nombre de répétitions des injections. Selon les instruments et modules configurés, d'autres champs peuvent être accessibles. Par exemple, si un système CPL Agilent 1100/1200 comporte un collecteur de fractions, la colonne Fract. Start (Début de fraction) apparaît dans la table de séquence. La présentation de la table de séquence est modifiable par l'utilisateur. Vous pouvez passer d'une cellule à une autre dans la table et copier, couper ou coller des cellules, des lignes entières ou une série de lignes de manière à créer des séquences efficacement et rapidement.

Dans la table de séquence, les échantillons sont identifiés comme échantillons inconnus, échantillons d'étalonnage et échantillons de contrôle. Le type d'échantillon détermine le traitement spécifique de l'échantillon au niveau de l'évaluation des données :

- Les échantillons inconnus sont évalués et font l'objet d'un rapport conformément à la méthode spécifiée.
- Les échantillons d'étalonnage permettent de réétalonner le composant de quantification de la méthode comme indiqué ci-après.
- Les échantillons de contrôle sont évalués par rapport aux limites de chacun des composants définis dans la méthode. Si les résultats obtenus dépassent la plage de paramètres spécifiée, l'analyse de la séquence est interrompue.

Les échantillons d'étalonnage peuvent être simples, cycliques ou encadrants. Les réétalonnages simples indiquent qu'un réétalonnage se produit à chaque définition d'un échantillon d'étalonnage dans la séquence. Les réétalonnages cycliques se produisent à des intervalles définis lors de l'analyse d'une série d'échantillons inconnus. Lors de l'encadrement d'une série d'échantillons

inconnus, deux jeux d'étalonnage sont analysés. Les rapports quantitatifs des échantillons inconnus sont ensuite calculés à l'aide de la table d'étalonnage échelonnée entre les deux jeux d'étalonnage.

La fonctionnalité de séquence partielle vous permet non seulement de visualiser l'ordre d'analyse de la séquence, mais aussi de sélectionner des entrées d'échantillons à réanalyser ou à réévaluer. Dans le cadre de la réévaluation de données déjà acquises, vous pouvez indiquer si le retraitement s'effectue sur la base des données de quantification de l'échantillon d'origine ou sur la base des nouvelles données saisies dans la table de séquence de l'échantillon.

Vous pouvez interrompre momentanément des séquences pour que des échantillons prioritaires d'injection simple puissent être analysés par une autre méthode ; vous pouvez ensuite relancer les séquences sans perturber l'automatisation. Vous pouvez ajouter des échantillons à la table de séquence pendant l'exécution de la séquence.

Vous pouvez imprimer la table de séquence et la table de séquence partielle.

Pour plus d'information sur les séquences, reportez-vous à la section

Automatisation

et au système d'aide en ligne (« Automatisation », page 171).

Bonnes pratiques de laboratoire (BPL)

ChemStation a été développé conformément aux normes de conception et de développement internationales et comporte un ensemble de fonctionnalisés spécifiques pour aider les utilisateurs travaillant dans un environnement réglementé. Ces fonctions concernent la spécification complète des méthodes et la vérification de leur conformité à l'utilisation prévue, le contrôle du fonctionnement du système et la traçabilité, l'originalité et la qualité des données.

Processus de développement

Le certificat de validation fourni avec chaque progiciel documente les étapes de développement et de test conduites dans le cadre du cycle de développement. Le processus de développement est conforme à la norme ISO 9001. Il est documenté avec les protocoles de revalidation sur site dans le*Recueil de validation Agilent ChemStation pour la chromatographie liquide*.

Spécification et utilisation des méthodes

- Méthodes globales : la spécification complète des instruments et de l'analyse des données est stockée à un emplacement unique. Ces méthodes comportent des spécifications de plages pour des composés individuels afin de garantir que les résultats de quantification ne sont pas appliqués à l'extérieur de la plage d'étalonnage.
- Je journal d'historique de modification des méthodes permet d'enregistrer automatiquement les modifications apportées à une méthode validée, ainsi que la date de ces modifications. Il est également possible d'ajouter en commentaire la justification de la modification dans le journal d'historique. L'historique des modifications est automatiquement enregistré au format binaire comme faisant partie intégrante de la méthode. Afin d'éviter tout accès non autorisé aux enregistrements, cet historique est protégé par le schéma d'accès des utilisateurs décrit ci-dessous. L'historique des modifications peut être affiché et imprimé.
- Dans chaque méthode, il est possible de définir des limites, pour chaque composé, pour un certain nombre de paramètres chromatographiques/électrophorétiques et de paramètres de performances système, comme décrit dans la section relative à la quantification des résultats. Les résultats hors de ces plages permettent de contrôler l'exécution des séquences automatisées comme décrit dans la section relative à l'automatisation. Ils sont identifiés dans le rapport d'analyse correspondant.
- Les rapports de performances ou de conformité du système (voir la section relative à la génération de rapports ci-dessus) présentent une analyse détaillée de la qualité de séparation.

ChemStation peut être configuré de manière à limiter l'accès selon deux niveaux d'accès utilisateur (niveau opérateur et gestionnaire). Le niveau gestionnaire, qui peut être protégé par mot de passe, permet d'accéder à toutes les fonctionnalités de la ChemStation. Le niveau opérateur permet uniquement d'accéder aux principales fonctionnalités et d'exécuter les méthodes d'analyse définies. Ce niveau, qui est destiné à un usage en laboratoire standard, empêche en particulier les utilisateurs de modifier et de créer des méthodes.

Robustesse des méthodes

Les rapports récapitulatifs de séquence (voir « Rapport récapitulatif de séquence », page 244) permettent de tester la robustesse des méthodes. Les rapports détaillés pour des critères définis par l'utilisateur se présentent sous

forme de tableaux de tendance et peuvent être utilisés pour déterminer des limites opératoires réalistes. Ces limites peuvent ensuite être intégrées à la méthode afin de vérifier qu'elle respecte les limites spécifiées par analyse d'échantillons étalons.

Fonctionnement du système

Le kit de vérification ChemStation, qui fait partie du logiciel standard, vérifie automatiquement l'installation et le fonctionnement corrects des composants d'évaluation des données du logiciel en comparant les résultats générés lors de l'exécution du test à des valeurs connues préenregistrées. Ce kit de vérification permet à l'utilisateur de définir ses propres fichiers de données et méthodes qui serviront de base au test.

Traçabilité, originalité et qualité des données

Le journal d'exécution consigne les transactions de l'ensemble du système. Il enregistre également tous les événements inhabituels (tels que : erreurs, modifications de paramètres en cours d'analyse), ainsi que l'état de l'instrument avant et après chaque analyse. Une copie de l'extrait de journal correspondant est enregistrée avec chaque fichier de données.

Les conditions de fonctionnement réelles de l'instrument (pression, débit et température, par exemple) relevées au cours de chaque analyse sont également enregistrées si l'instrument analytique configuré prend en charge cette fonctionnalité. Ces données peuvent par la suite être présentées sous forme graphique avec le chromatogramme/électrophorégramme, de manière à présenter les conditions de fonctionnement réelles de l'instrument au cours d'une analysé donnée. Elles peuvent également être intégrées au rapport.

Les méthodes enregistrées dans le fichier de données reflètent la méthode réelle au moment de l'analyse et permettent de procéder ultérieurement à la reconstruction totale des données faisant l'objet d'un rapport. La méthode est enregistrée après toutes les étapes analytiques.

Tous les rapports sont horodatés et leurs pages sont numérotées (pagination de type *page x sur y*). l'utilisateur peut sélectionner le niveau de détail de chaque rapport, de rapports résumés simples à des rapports détaillant l'ensemble du du système (voir la section relative aux rapports ci-dessus).

Les fichiers de registre BPL spécifiés dans le cadre de la configuration des méthodes consignent toutes les données brutes, comprenant les informations d'échantillon, la méthode d'analyse des données, les signaux chromatographi-

ques/électrophorétiques, les conditions opératoires de l'instrument, les résultats d'intégration et de quantification, les résultats finaux et le journal d'exécution, dans un seul fichier binaire protégé par somme de contrôle. Ce format binaire non modifiable garantit l'originalité des résultats. Le fichier comporte un schéma de révision qui indique si les données ont été retraitées.

Vous pouvez définir les types d'échantillons étalons dans la table de séquence et les utiliser pour contrôler automatiquement les performances de l'instrument à partir des résultats des échantillons de contrôle qualité lorsque l'instrument fonctionne sans surveillance. Les résultats hors de la plage acceptable définie par l'utilisateur provoquent l'arrêt du fonctionnement automatique de l'instrument.

Commande des instruments

Vous pouvez enrichir la capacité de commande des instruments de la ChemStation en acquérant d'autres modules permettant les configurations à plusieurs instruments et à techniques mixtes. Pour plus d'informations, reportez-vous aux manuels fournis avec les autres modules ChemStation.

Fonctionnement en réseau

ChemStation est testé et compatible avec les logiciels Agilent LanManager Microsoft Windows XP Professionnel et Microsoft Windows Vista Professionnel, conformes à la spécification IEEE 802.3 CSMA/CD. Il doit être compatible avec tout logiciel de gestion de réseau conforme aux normes de programmation de Microsoft Windows.

Grâce à ces produits, la ChemStation peut partager non seulement des périphériques physiques (traceurs, imprimantes, par exemple) avec d'autres ordinateurs de laboratoire, mais également des informations (fichiers de données, méthodes, etc.).

Client/serveur

Le logiciel ChemStation peut être installé sur un serveur réseau adapté, puis téléchargé sur les PC clients suivant les besoins. Chaque configuration spécifique d'un client garantit un environnement adapté pour différentes techniques et chaque utilisateur, tandis que l'installation centralisée du logiciel évite la gestion de copies multiples de la même installation de ChemStation dans un même environnement de travail.

Commande des instruments sur un réseau local

Le logiciel ChemStation permet la commande d'instruments et l'acquisition de données sur un réseau local pour les systèmes Agilent 7890 GC, Agilent 6890 GC, le module de commande analogique/numérique Agilent 35900E et le système Agilent série 1100/1200 LC. Des instruments peuvent être aisément pilotés

et contrôlés en les connectant à un réseau local sur lequel réside le PC Chem-Station. Cette configurationpermet de localiser le PC ChemStation à distance des instruments qu'il commande.

Documentation

La documentation comporte des sections consacrées aux sujets suivants

- Installation et apprentissage du logiciel ChemStation
- Utilisation du logiciel ChemStation
- Principe de fonctionnement du logiciel ChemStation
- Personnalisation de la ChemStation

Installation et apprentissage

Chaque logiciel ChemStation est livré avec un manuel d'installation qui détaille la configuration matérielle et logicielle requise, l'installation de l'interface de l'instrument, l'installation du logiciel et la validation de l'installation. Chaque manuel se rapporte précisément à la configuration acquise et peut comporter des conseils sur le dépannage, les registres système et la maintenance du système.

Utilisation du logiciel

Deux autres catégories d'informations en ligne ont été conçues pour les utilisateurs réguliers.

Le logiciel ChemStation comporte une aide en ligne contextuelle et indexée complète de type Windows. Ce système donne des explications détaillées sur chaque écran et indique la signification des paramètres qui y figurent. Ces explications détaillées sont, si nécessaire, complétées par des graphiques. Vous pouvez les copier dans le presse-papiers de Windows pour les incorporer dans votre documentation personnelle ou les imprimer.

Grâce à un didacticiel intégré à l'aide en ligne, vous pouvez apprendre à utiliser le logiciel tout en travaillant avec vos propres méthodes et données. Ce didacticiel propose une présentation générale des premières étapes d'acquisition et d'analyse de données.

La rubrique procédurale de l'aide en ligne comprend également des listes de vérification pour les tâches chromatographiques courantes et propres à une technique les plus complexes, de manière à aider les utilisateurs moins réguliers à vérifier qu'ils configurent correctement le système. Ces listes de vérification sont directement reliées à des informations détaillées de l'aide en ligne.

Principe de fonctionnement

Le manuel *Comprendre votre ChemStation* documente le principe de fonctionnement du logiciel, ainsi que les algorithmes utilisés lors des manipulations de données.

Personnalisation

Les utilisateurs chevronnés qui souhaitent personnaliser le fonctionnement de la ChemStation ou y ajouter d'autres fonctions peuvent écrire des macros à cet effet.

Le manuel de référence de base, intitulé *Guide de macroprogrammation*, que vous trouverez dans l'aide en ligne, donne de nombreux exemples fonctionnels, ainsi qu'une description complète des structures et types de données internes.

Le fichier d'aide relatif aux commandes, accessible directement à partir du menu Help (Aide) ou de la boîte de dialogue Show Command (Afficher la commande) de la ChemStation, constitue pour le programmeur l'ouvrage de référence des fonctions. Il décrit la syntaxe et les paramètres et fournit des exemples de macros illustrant l'utilisation de la plupart des commandes. Ce fichier étant disponible en ligne, vous pouvez copier les exemples et la syntaxe de commande directement dans les fichiers source de vos propres macros.

Structure de répertoires ChemStation

La structure des répertoires du logiciel ChemStation est illustrée dans l'exemple suivant. Elle comporte des répertoires génériques partagés par tous les instruments configurés et des répertoires spécifiques des instruments. Le programme d'installation du logiciel crée un sous-répertoire du répertoire ChemStation (par défaut CHEM32) pour chaque instrument configuré, avec le numéro de l'instrument. Les données, les méthodes et les séquences de l'instrument sont stockées par défaut dans son sous-répertoire. Il est possible d'ajouter d'autres sous-répertoires pour les données, les méthodes et les séquences dans Preferences (Préférences). L'Explorateur ChemStation permet de naviguer aux nouveaux emplacements afin de charger des données, des méthodes et des séquences. Ces nouveaux emplacements sont également disponibles dans chaque zone de sélection des options de menu ChemStation (par exemple, pour les paramètres de chemin d'accès dans les paramètres de séquence).

Les sous-répertoires ChemStation sont :

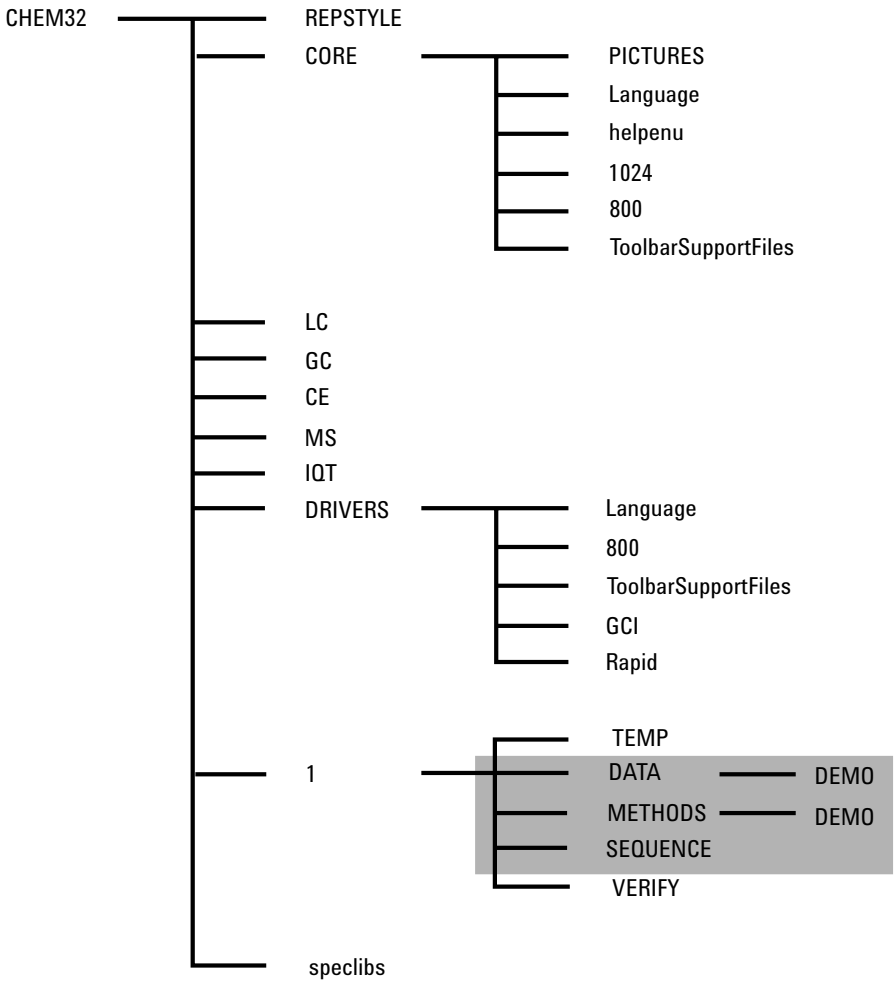


Figure 1 Structure des répertoires ChemStation

Tableau 3 Sous-répertoires ChemStation

Répertoire	Contents
Chem32	Ce répertoire contient les programmes utilisés pour configurer et démarrer le logiciel ChemStation. Il doit faire partie de la variable PATH. Ce répertoire est ajouté automatiquement par le programme d'installation sauf si vous en spécifiez un autre.
REPSTYLE	Utilisé pour les modèles de rapport définis à l'aide de l'éditeur de modèle de rapport.
CORE	Utilisé pour les composants centraux du logiciel partagés par toutes les configurations d'instrument chromatographique / électrophorétique. C'est le répertoire de travail de ChemStation.
PICTURES	Contient des graphiques requis par le logiciel ChemStation.
Language	Utilisé pour le code de langue nationale de cette partie du logiciel.
1024, 800, fichiers ToolbarSupport	Contient les fichiers d'initialisation pour l'interface utilisateur graphique. Ne pas modifier.
helpenu	Utilisé pour la version anglaise (États-Unis) des fichiers d'aide pour la partie appropriée du logiciel.
BACKUP	Utilisé pour les copies de sauvegarde d'anciens fichiers lors de l'installation.
DRIVERS	Contient les pilotes des instruments.
1	Utilisé pour l'instrument configuré (1 à 4). Ce sous-répertoire comprend cinq sous-répertoires additionnels : DATA, METHODS, SEQUENCE, VERIFY et TEMP.
DATA	Contient les répertoires de résultats par défaut de vos analyses. Il est également possible d'ajouter des sous-répertoires supplémentaires à l'aode de la boîte de dialogie Sample Information ou Sequence Parameters. Les répertoires de résultats sont identifiés par un nom avec une extension ".D". La structure des fichiers de données est décrite de manière plus détaillée dans la section « Acquisition de données », page 65. La fonction Preferences (Préférences) permet d'ajouter des chemins de données supplémentaires.

Tableau 3 Sous-répertoires ChemStation

Répertoire	Contents
METHODS	Comprend les répertoires de méthode maîtresse par défaut qui ont une extension ".M". Pour plus de détails sur le contenu, voir « Structure de répertoire des méthodes », page 55. La fonction Preferences (Préférences) permet d'ajouter des chemins de méthode supplémentaires.
SEQUENCE	Contient le répertoire par défaut pour les modèles de séquence. Les modèles de séquence dans ces répertoires ont une extension ".S". La fonction Preferences (Préférences) permet d'ajouter des chemins de séquence supplémentaires (voir « Boîte de dialogue Preferences (Préférences) - Onglet Sequence (Séquence) », page 175 et « Paramètres de séquence », page 177).
VERIFY	Contient les fichiers de données, les méthodes et les résultats de traitement de données stockés dans des fichiers de registre (.REG). Ces fichiers exécutent la procédure de vérification ChemStation décrite dans l'aide en ligne. Un jeu de fichiers de données, de méthode et de registre est utilisé pour chaque test de vérification.
TEMP	Le sous-répertoire TEMP comprend les fichiers de travail temporaire et les fichiers journal. Par exemple, pour Instrument 1 le journal en ligne est appelé INSTR1.LOG et le journal hors ligne est appelé INSTR1-2.LOG.
LC, GC, CE, MS	Code spécifique des pilotes des instruments tel que des fichiers INI.
IQT	Contient les fichiers nécessaires pour la génération de rapport IQT.
speclibs	Contient les bibliothèques spectrales.

Panneau de navigation

Un panneau de navigation, qui se trouve à gauche de toutes les vues ChemStation, permet d'accélérer l'accès à de nombreux éléments ChemStation et de passer rapidement d'une vue à une autre. Ce panneau contient l'explorateur ChemStation (sous forme d'arborescence) et une zone de boutons configurables. Il comporte également une fonction de masquage automatique qui permet d'optimiser l'espace de travail du logiciel ChemStation et propose des fonctions standard (redimensionnement et réorganisation de la zone de boutons de navigation, par exemple).

Boutons de navigation

Les boutons de navigation vous permettent de passer d'une vue du logiciel ChemStation à une autre. Pour ce faire, il vous suffit de cliquer sur le bouton de navigation concerné. Vous pouvez réduire, agrandir et réorganiser la section Navigation Button (Bouton de navigation).

Explorateur ChemStation

Le contenu du panneau de navigation dépend de la vue. Pour les vues Method and Run Control (Contrôle de méthode et d'analyse), Data Analysis (Analyse de données) et Report Layout (Mise en page de rapport), l'explorateur ChemStation vous permet d'accéder aux différents éléments de la ChemStation. Pour les données, les méthodes et les séquences, ces éléments reposent par défaut sur les paramètres de l'éditeur de configuration. Vous pouvez étendre la représentation de ces éléments et spécifier de nouveaux nœuds pour les méthodes, les séquences et les données à l'aide de l'option Preferences (Préférences) du menu View (Affichage).

Tableau 4 Options du panneau de navigation

Boutons de navigation	Options de l'explorateur ChemStation
Method and Run Control (Contrôle de méthode et d'analyse)	Modèles de séquence/méthodes maîtresses
Data Analysis (Analyse de données)	Données/méthodes maîtresses
Report Layout (Mise en page de rapport)	Méthodes maîtresses
Verification (LC and LC/MS) [Vérification (CPL et CPL/SM)]	Raccourcis propres à la vue de vérification
Diagnosis (LC and LC/MS) [Diagnostic (CPL et CPL/SM)]	Raccourcis propres à la vue de diagnostic
Tune (LC/MS) [Réglage (CPL/SM)]	Raccourcis propres à la vue de réglage

2 Méthodes

Qu'est-ce qu'une méthode ? 45

Parties d'une méthode 46

- Informations sur les méthodes 46
- Instrument Control (Contrôle de l'instrument) 46
- Analyse de données 46
- Run-Time Checklist (Liste de contrôle d'analyse) 48

Etat des méthodes 49

- Méthodes enregistrées 49
- Méthode active 50

Création de méthodes 52

Modification des méthodes 53

- Eléments modifiables d'une méthode 53

Structure de répertoire des méthodes 55

Pendant l'exécution d'une méthode 56

- Exécution de méthode 56
- Commande ou macro de pré-analyse(liste de vérification de l'exécution) 57
- Acquisition de données(liste de vérification de l'exécution) 57
- Analyse de données(liste de vérification de l'exécution) 58
- Analyse de données personnalisée(liste de vérification de l'exécution) 59
- Enregistrement des données de BPL(liste de vérification de l'exécution) 59
- Commande ou macro de post-analyse(liste de vérification de l'exécution) 60
- Enregistrement d'une copie de la méthode avec les données(liste de vérification de l'exécution) 60

Enregistrement d'une copie de la méthode (DA.M) avec les données (ChemStation par défaut) 61

Récapitulatif de l'exécution d'une méthode 62

Ce chapitre décrit les méthodes et leur utilisation.

Qu'est-ce qu'une méthode ?

Une méthode inclut tous les paramètres d'acquisition et d'analyse de données, ainsi que les tâches pré- et post-analyse pour un échantillon donné, le cas échéant.

Les fichiers de méthodes disponibles (*.m) sont affichés dans l'Explorateur ChemStation. Afin de faciliter la navigation, il est possible d'ajouter des emplacements de méthode supplémentaires dans l'arborescence de sélection de l'Explorateur ChemStation à l'aide de l'onglet Paths (Chemins) de la boîte de dialogue Preferences (Préférences)

Parties d'une méthode

Une méthode est identifiée par un nom comportant jusqu'à 40 caractères alphanumériques. Le nom de fichier porte toujours l'extension .M, qui l'identifie en tant que méthode. Les méthodes sont stockées dans des répertoires qui comprennent les fichiers correspondants à chaque composant des méthodes.

Chaque méthode comporte quatre composants :

- informations sur la méthode,
- commande des instruments,
- analyse de données,
- liste de vérification de l'exécution.

Informations sur les méthodes

Cette section fournit des informations descriptives sur les méthodes.

Instrument Control (Contrôle de l'instrument)

Configure les paramètres qui commandent l'instrument ou ses composants. Avec un instrument de CPL, certains paramètres (composition de la phase mobile, débit, volume d'injection, détecteur à longueur d'onde, etc.) commandent la pompe, l'injecteur et le détecteur. Avec un instrument de CPG, des paramètres tels que la température d'injection, la pression d'injection et le débit de colonne remplie commandent l'instrument.

Analyse de données

Cette fonctionnalité permet de définir les paramètres qui régissent le traitement des données.

Signal Details (Détails des signaux)

Définit les signaux et leurs propriétés utilisées pour l'évaluation des données.

Integration Events (Événements d'intégration)

Configure les événements programmés qui interviennent à des temps de rétention/migration spécifiques d'un chromatogramme/électrophorégramme. Ces événements programmés permettent de modifier le mode d'intégration du signal.

Peak Identification (Identification des pics)

Configure les paramètres de traitement des données associés à l'identification des pics dans le chromatogramme / électrophorégramme.

Peak Quantification (Quantification des pics)

Configure les paramètres de traitement de données qui influent sur les calculs de quantification déterminant la quantité ou la concentration des composants d'échantillon correspondant à chaque pic.

Calibration and Recalibration (Étalonnage et réétalonnage)

Configure les paramètres de traitement de données relatifs à l'étalonnage, ainsi que la fréquence de l'étalonnage.

Custom Fields (Champs personnalisés)

Définit les propriétés des champs personnalisés disponibles pour la méthode qui sont associés aux échantillons ou aux composés. Les champs personnalisés permettent d'ajouter des informations spécifiques à un échantillon ou un composé dans un échantillon.

Report (Rapport)

Définit le format du rapport qui est imprimé à la fin d'une analyse.

Run-Time Checklist (Liste de contrôle d'analyse)

Définit les parties d'une méthode qui sont exécutées lorsque la méthode est appliquée.

La liste de contrôle d'analyse peut être utilisée pour :

- l'acquisition, l'enregistrement et le traitement de données pour générer un rapport,
- l'exécution d'une partie de la méthode,
- l'acquisition et l'enregistrement de données sans les analyser,
- la réanalyse des fichiers de données existants,
- l'utilisation de vos propres macros pour l'analyse des données et le traitement pré-analyse et post-analyse, et
- l'enregistrement des résultats d'analyse dans un registre dans le cadre des BPL.

Etat des méthodes

Une méthode se présente sous l'un des deux états suivants : méthode stockée ou méthode chargée active.

Méthodes enregistrées

Ces méthodes sont enregistrées sur le disque de l'ordinateur. Les méthodes enregistrées portent un nom de 40 caractères alphanumériques au maximum suivi par l'extension ".M". Elles peuvent être enregistrées dans trois emplacements :

- La méthode maîtresse, qui est enregistrée dans un sous-répertoire de méthodes dans un nœud Methods de l'Explorateur ChemStation et n'est pas directement associée à un conteneur de données.
- Lorsqu'une séquence est exécutée (à l'aide de l'option **Unique Folder Creation ON**, voir « Boîte de dialogue Preferences (Préférences) - Onglet Sequence (Séquence) », page 175), des copies de toutes les méthodes maîtresses utilisées dans la séquence sont stockées dans le conteneur de données de séquence avec les fichiers de données correspondants. Ces méthodes sont directement associées à la séquence et sont également utilisées lors du retraitement de la séquence. Les modifications apportées à ces méthodes ne sont pas répercutées dans les méthodes maîtresses. Ces modifications sont répercutées dans la méthode Sequence Container (Conteneur de séquences), ainsi que dans chaque méthode d'analyse de données (DA.M) lors du retraitement de la séquence. Pour utiliser la méthode du conteneur de séquences actualisée lors de l'acquisition de données :
  - copier cette méthode à partir du conteneur de données de séquence dans l'un des chemins définis pour la méthode, ou
  - utiliser l'option Save as (Enregistrer sous) pour enregistrer la méthode mise à jour en tant que méthode maîtresse.

    La méthode nouvelle/mise à jour est alors disponible en tant que méthode maîtresse dans la vue des méthodes de l'Explorateur ChemStation.

- De plus, deux copies de la méthode utilisée pour analyser un échantillon sont enregistrées dans les fichiers de données : ACQ.M et DA.M (ACQ.M correspond à la méthode d'acquisition, DA.M correspond à la méthode d'analyse de données). DA.M est la méthode chargée avec le fichier de données si vous avez coché la case Load DA method from data file (Charger la méthode d'analyse de données à partir du fichier de données) dans l'onglet Signal Options (Options de signal) de la boîte de dialogue Preferences (Préférences). Les modifications apportées à cette méthode (événements d'intégration programmés, par exemple) sont spécifiques du fichier de données associé et ne sont pas répercutées dans la méthode de séquence ou dans la méthode maîtresse.

La table de navigation permet de mettre à jour des méthodes individuelles et des méthodes de séquence avec leur méthode de séquence ou maîtresse correspondante en cliquant avec le bouton droit sur la ligne de la méthode concernée. La fonction Update Master Method / Update Sequence (Mettre à jour la méthode maîtresse/séquence) permet de copier les paramètres d'analyse des données de la méthode choisie vers la méthode maîtresse/de séquence correspondante. Cette mise à jour automatique est répercutée dans l'historique de la méthode cible.

Tableau 5 Disponibilité de la fonctionnalité Méthode ... Mise à jour dans la table de navigation et dans le menu Method (Méthode)

Méthode chargée	Option de mise à jour disponible
Méthode individuelle d'analyse de données (DA.M)	Update Master Method (Mettre à jour méthode maîtresse)
	Update Sequence Method (Mettre à jour méthode de séquence)
Méthode de séquence	Update Master Method (Mettre à jour méthode maîtresse)
Méthode maîtresse	----

Méthode active

Lorsqu'une méthode stockée sur le disque est rappelée, elle devient la méthode active. Une méthode active est toujours chargée en mémoire. Lorsque vous lancez le logiciel ChemStation pour la première fois, la méthode par défaut

fournie par Agilent Technologies est toujours chargée dans le cadre du processus de démarrage. Par exemple, il peut s'agir de l'une des deux méthodes suivantes :

- DEF_LC.M pour un instrument de CPL
- DEF_GC.M pour un instrument de CPG
- DEF_CE.M pour un instrument d'EC

Une copie de la méthode par défaut est placée dans la mémoire et devient la méthode active. A ce stade, vous pouvez charger une autre méthode qui deviendra alors la nouvelle méthode active.

Création de méthodes

La création d'une méthode passe systématiquement par la modification de la méthode active et par l'enregistrement des modifications sous un nouveau nom de méthode. Attention : Lorsque vous modifiez la méthode active, la version qui figure sur le disque demeure inchangée tant que vous n'avez pas enregistré vos modifications.

Vous pouvez créer une méthode de plusieurs manières, soit pour procéder à une analyse partielle, soit pour procéder à une analyse complète. Par exemple, vous pouvez créer une méthode pour n'effectuer que l'acquisition de données. Lorsque vous êtes prêt à analyser les données et à générer un rapport de recherche dans la bibliothèque, vous pouvez modifier la méthode pour effectuer ces tâches de traitement de données.

REMARQUE Lorsque vous chargez une méthode pour analyser un échantillon, optez toujours pour une méthode maîtresse issue d'un nœud de méthode dans l'explorateur de la ChemStation. Evitez d'utiliser des méthodes de séquence (à partir d'un conteneur de données de séquence) ou des méthodes individuelles associées à des fichiers de données (ACQ.M ou DA.M).

REMARQUE Ne supprimez pas la méthode par défaut (DEF_LC.M, DEF_CE.M ou DEF_GC.M)). Ces fichiers de méthode servent de modèle pour créer des méthodes.

Modification des méthodes

Vous pouvez modifier une méthode existante à l'aide de l'option Edit Entire Method (Modifier l'intégralité de la méthode) du menu Method (Méthode). Le processus est guidé par des boîtes de dialogue et la méthode peut finalement être enregistrée. Ce processus est décrit ci-dessous :

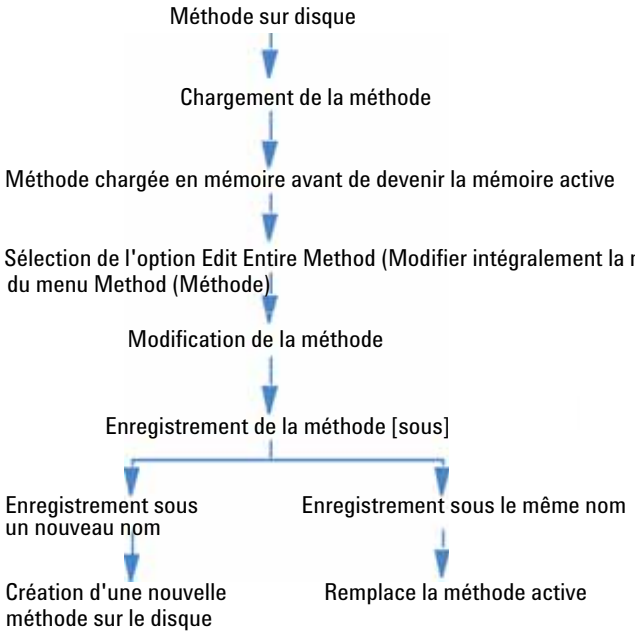

Méthode sur disque
Chargement de la méthode
Méthode chargée en mémoire avant de devenir la mémoire active
Sélection de l'option Edit Entire Method (Modifier intégralement la méthode) du menu Method (Méthode)
Modification de la méthode
Enregistrement de la méthode [sous]
Enregistrement sous un nouveau nom
Enregistrement sous le même nom
Création d'une nouvelle méthode sur le disque
Remplace la méthode active

Figure 2 Modification de méthode

Eléments modifiables d'une méthode

Chaque méthode comporte quatre composants qui peuvent être modifiés séparément.

Certains des paragraphes ci-dessous font référence à des boîtes de dialogue spécifiques, tandis que d'autres sont des descriptions générales.

- *Method Information* (Informations sur la méthode) comporte :
  - un texte de description de la méthode.
- *Instrument Control* (Commande des instruments) dépend de la configuration et peut comporter, par exemple :
  - les paramètres de four,
  - les paramètres d'injecteur, et
  - les paramètres de détecteur.
- *Data Analysis* (Analyse de données) comporte :
  - les détails de signal,
  - les paramètres d'intégration,
  - les paramètres de quantification,
  - les paramètres d'étalonnage,
  - les paramètres de configuration de champ personnalisé, et
  - les paramètres de génération de rapports.
- *Run Time Checklist* (Liste de contrôle d'analyse) comprend :
  - les parties de la méthode à exécuter.

REMARQUE Notez que les méthodes peuvent être enregistrées à trois emplacements différents dans ChemStation. Vérifiez que vous modifiez la méthode appropriée.

Structure de répertoire des méthodes

Une méthode comporte un groupe de fichiers stockés dans son répertoire.

Le sous-répertoire des méthodes comporte tous les sous-répertoires de méthode ayant l'extension ".M". Il est possible d'ajouter des sous-répertoires de méthodes additionnels à l'aide des paramètres de préférence.

Les fichiers de méthode avec 'extension .MTH contiennent un ensemble de paramètres et sont au format UNICODE. Le fichier INFO.MTH contient les paramètres de commande de la méthode.

Les fichiers de méthode contenant les paramètres d'instrument portent le nom du module analytique associé. Par exemple :

Tableau 6 Exemples de fichiers de méthode

LC1090.MTH	Contient la méthode d'acquisition pour le système 1090.
GC5890.MTH	Contient la méthode d'acquisition pour le système 5890.
HPCE1.MTH	Contient la méthode d'acquisition pour l'électrophorèse capillaire.
DAD1.MTH	Contient la méthode d'acquisition pour le système HP 1090.
FLD1.MTH	Contient la méthode d'acquisition pour le détecteur à fluorescence HP1046.
ECD1.MTH	Contient la méthode d'acquisition pour le détecteur électrochimique HP1049.
ADC1.MTH	Contient la méthode d'acquisition pour le système Agilent 35900. Si deux instruments identiques sont configurés, les fichiers de méthode sont appelés ADC1.MTH et ADC2.MTH.
DAMETHOD.REG	Pour l'évaluation des données.
LALS1.REG	Contient les paramètres de l'injecteur automatique Agilent série 1100/1200. Les fichiers de méthode des autres modules Agilent série 1100/1200 suivent les mêmes conventions lxxx1.reg (où xxx correspond à l'acronyme du module).

Pendant l'exécution d'une méthode

Les parties de la méthode à exécuter au démarrage d'une analyse sont indiqués dans la boîte de dialogue Run Time Checklist (Liste de contrôle d'analyse).

La liste de contrôle d'analyse comporte huit éléments :

- commande ou macro pré-analyse,
- acquisition de données,
- analyse de données standard,
- méthode d'analyse du second signal (GC uniquement),
- analyse de données personnalisée,
- enregistrement des données BPL,
- commande ou macro post-analyse,
- enregistrement d'une copie de la méthode avec les données (RUN.M).

Lors de l'exécution d'une méthode, les parties de la méthode spécifiées dans la boîte de dialogue Run Time Checklist (Liste de contrôle d'analyse) sont exécutées.

Exécution de méthode

Le schéma ci-dessous représente l'état du logiciel ChemStation lors de l'exécution d'une méthode, *tous* les éléments de la liste de contrôle d'analyse étant sélectionnés.

REMARQUE Notez que dans le cas du mode Unique Folder Creation OFF (Mode Création de dossiers uniques désactivé),aucun fichier ACQ.M ou DA.M n'est généré. Pour plus de détails, voir « Boîte de dialogue Preferences (Préférences) - Onglet Sequence (Séquence) », page 175.

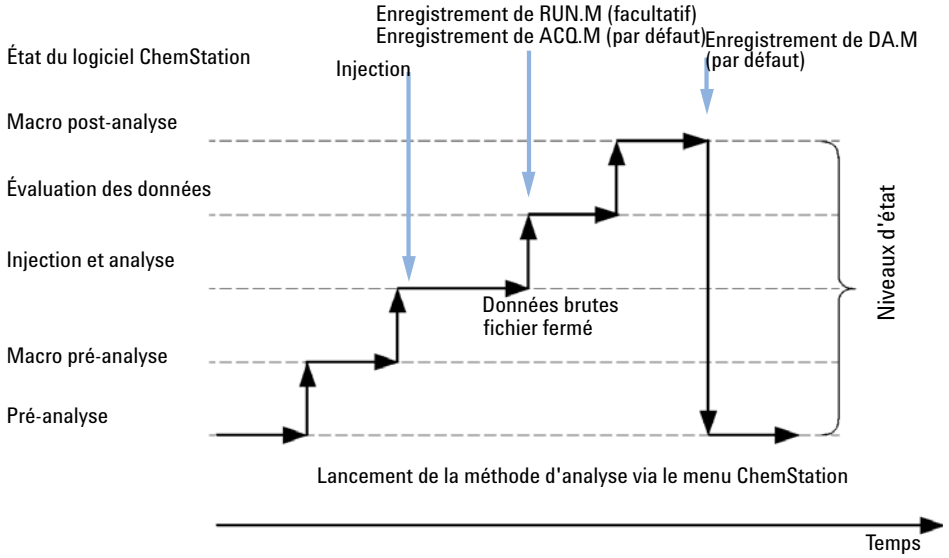


Figure 3 Exécution de méthode

Commande ou macro de pré-analyse(liste de vérification de l'exécution)

Lorsque vous spécifiez une commande ou une macro de pré-analyse, celle-ci est exécutée avant le début de l'analyse. En règle générale, cet élément est utilisé dans le cadre de la personnalisation du système en association avec d'autres progiciels.

Acquisition de données(liste de vérification de l'exécution)

- Tous les paramètres sont configurés conformément aux conditions initiales spécifiées dans la méthode active.
- Si vous l'avez désigné, le programme d'injection est exécuté et une injection est effectuée à partir du flacon défini.

- L'affichage du moniteur montre la progression de l'analyse, y compris les informations relatives à la chromatographie/à l'électrophorèse et les données spectrales éventuelles.
- Les données sont acquises et stockées dans un fichier de données.
- Une fois les données acquises, une copie de la méthode en cours d'exécution est stockée sous forme de méthode ACQ.M pour le fichier de données par défaut.

Analyse de données(liste de vérification de l'exécution)

Une fois le temps de fin atteint, l'analyse s'arrête et toutes les données brutes sont stockées sur le disque dur de l'ordinateur. Le module d'analyse de données du logiciel démarre lorsque toutes les données brutes sont stockées.

Intégration

- Les objets chromatogrammes/électrophorégrammes acquis sont intégrés conformément aux paramètres de la boîte de dialogue Integration Events (Evénements d'intégration).
- Pour chaque pic, le début, le sommet, le temps de rétention/de migration et la fin sont déterminés.
- Des lignes de base sont définies pour chaque pic, afin de déterminer l'aire et la hauteur du pic final.
- Les résultats d'intégration sont générés sous la forme d'une liste de résultats d'intégration.

Identification et quantification des pics

- En utilisant les temps de rétention/migration et les qualificateurs de pic facultatifs, le logiciel identifie les pics en les associant aux composants connus définis dans la table d'étalonnage.
- Le logiciel utilise la hauteur ou l'aire des pics pour calculer la quantité de chacun des composants détectés à l'aide des paramètres d'étalonnage spécifiés dans la table d'étalonnage.

Recherche dans la bibliothèque spectrale (Logiciels ChemStation pour les systèmes CPL 3D, EC, EC/SM et CPL/SM uniquement)

Pour tous les pics dotés de spectres UV-visible, une recherche est automatiquement effectuée dans la bibliothèque spectrale prédéfinie afin d'identifier les composants de l'échantillon sur la base des spectres UV-visible. Pour plus d'informations, reportez-vous à *Comprendre votre module spectral*.

Contrôle de la pureté des pics (logiciels ChemStation pour les systèmes CPL 3D, EC, EC/SM et CPL/SM uniquement)

Vous pouvez calculer le facteur de pureté d'un pic doté de spectres UV-visible et consigner cette valeur dans un registre. Pour que la pureté des pics soit automatiquement calculée à la fin de chaque analyse comme partie intégrante de la méthode, cochez la case Check Purity (Vérifier la pureté) lorsque vous désignez une bibliothèque pour la recherche automatique ou lorsque vous sélectionnez un style de rapport approprié. Pour plus d'informations, reportez-vous à *Comprendre votre module spectral*.

Impression d'un rapport

Un rapport indiquant le nom et la quantité des composants détectés au cours de l'analyse est généré.

Analyse de données personnalisée(liste de vérification de l'exécution)

Vous permet d'exécuter vos propres macros personnalisées pour évaluer les données d'analyse.

Enregistrement des données de BPL(liste de vérification de l'exécution)

Enregistre le registre binaire GLPSave.Reg avec la méthode d'analyse de données dans le sous-répertoire de fichier de données par défaut. Cette fonction permet de garantir l'origine des données et la qualité de chacune des analyses.

Le fichier binaire GLPSave.Reg est un fichier de registre non modifiable et protégé qui comporte les informations suivantes :

- les principaux points de consigne des instruments (qui peuvent être consultés sous une forme graphique),
- les acquisitions de chromatographie ou d'électrophorèse,
- les résultats d'intégration,
- les résultats de quantification,
- la méthode d'analyse de données,
- le journal.

Ces données ne sont enregistrées que si vous avez activé la fonction Save GLP Data (Enregistrer les données de BPL) en cochant la case correspondante sur la liste de vérification de l'exécution. Vous pouvez consulter les données de BPL à partir du menu Data Analysis (Analyse de données) du logiciel ChemStation, mais vous ne pouvez pas les modifier.

Commande ou macro de post-analyse(liste de vérification de l'exécution)

Si vous avez défini une commande ou une macro de post-analyse, elle est exécutée après l'évaluation des données (copie de données sur un disque pour les sauvegarder, par exemple).

Enregistrement d'une copie de la méthode avec les données(liste de vérification de l'exécution)

Cet enregistrement s'effectue une fois l'acquisition des données terminée et uniquement si la case Data Acquisition (Acquisition de données) est cochée sur la liste de vérification de l'exécution. La méthode *active* est alors copiée dans le répertoire de données (appelé RUN.M).

Enregistrement d'une copie de la méthode (DA.M) avec les données (ChemStation par défaut)

Selon les éléments marqués dans la liste de vérification de l'exécution, une copie de la méthode *active* (en cours d'exécution) est enregistrée sous le nom DA.M avec le fichier de données. Cette action se produit après l'exécution du dernier élément marqué dans la liste de vérification de l'exécution, en général après l'analyse de données standard.

Récapitulatif de l'exécution d'une méthode

Le fonctionnement d'une méthode est décomposé sur la liste ci-dessous (cas où tous les éléments de la liste de vérification de l'exécution sont sélectionnés).

1 *Commande ou macro de pré-analyse*

Effectue une tâche avant le début de l'analyse.

2 *Acquisition de données*

Lance le programme d'injection.

Injecte l'échantillon.

Acquiert des données brutes.

Stocke les données.

3 *Enregistrement d'une copie de la méthode avec les données* (RUN.M) - action facultative de la liste de vérification de l'exécution

4 *Enregistrement d'une copie de la méthode avec les données* (ACQ.M) - ChemStation par défaut

5 *Analyse de données (traitement des données)*

Charge le fichier de données.

Intègre le fichier de données.

Identifie et quantifie les pics.

Effectue une recherche dans la bibliothèque spectrale, le cas échéant.

Vérifie la pureté des pics, le cas échéant.

Imprime le rapport.

6 *Analyse de données personnalisée*

Exécute vos macros.

7 *Enregistrement des données de BPL*

Enregistre le fichier de registre binaire GLPSave.Reg.

8 *Commande ou macro de post-analyse*

Effectue une tâche une fois l'analyse terminée (génération d'un rapport personnalisé, par exemple).

9 *Enregistrement d'une copie de la méthode avec les données* (DA.M) - ChemStation par défaut

3
Acquisition de données

Qu'est-ce que l'acquisition de données ? 66
Fichiers de données 67
Moniteurs en temps réel 69
- Moniteur de signaux en temps réel 69
- Moniteur de spectres en temps réel 69

Journal 70
Informations sur l'état 71
- Etat de la ChemStation 71
- Barre d'état 71
- Diagramme du système 72

Ce chapitre décrit entre autres l'acquisition de données, les fichiers de données et le journal.

Qu'est-ce que l'acquisition de données ?

Au cours d'une acquisition de données, tous les signaux analogiques acquis par l'instrument d'analyse sont convertis en signaux numériques dans le détecteur. Le signal numérique est ensuite transmis électroniquement au logiciel ChemStation et est stocké dans le fichier de données de signaux.

Les fichiers de données disponibles (*.d) sont affichés dans l'Explorateur ChemStation. Afin de faciliter la navigation, il est possible d'ajouter des emplacements de fichier de données supplémentaires dans l'arborescence de sélection de l'Explorateur ChemStation à l'aide de l'onglet Paths (Chemins) de la boîte de dialogue Preferences (Préférences).

Fichiers de données

Un fichier de données est constitué d'un groupe de fichiers stockés par défaut dans un sous-répertoire du répertoire DATA avec un nom de fichier de données et une extension ".D". Il est possible de définir manuellement un nom de fichier de données pouvant comporter jusqu'à 40 caractères, extension incluse. Chaque fichier présent dans le répertoire respecte une convention de noms. Des répertoires de données additionnels peuvent être ajoutés à l'aide des paramètres de Preferences (Préférences).

Tableau 7 Fichiers de données

Nom	Description
*.CH	Fichiers de données d'acquisition chromatographique / électrophorétique. Le nom du fichier comporte le type de module ou de détecteur, le numéro du module et l'identification du signal ou du canal. Par exemple, pour ADC1A.CH, ADC correspond au type de module, 1 au numéro du module et A est l'identificateur du signal. ".CH" désigne l'extension chromatographique.
*.UV	Fichiers de données spectrales UV. Le nom du fichier se compose du type de détecteur et du numéro de l'appareil (uniquement pour les détecteurs à barrette de diodes et à fluorescence).
REPORT.TXT, REPORT.PDF	Fichiers de données de rapport pour les fichiers de données de signaux équivalents.
SAMPLE.MAC	Macro d'informations d'échantillon.
SAMPLE.MAC.BAC	Sauvegarde de la macro d'informations d'échantillon originale. Ce fichier est créé lorsque les paramètres d'échantillon originaux (tels que des multiplicateurs) sont mis à jour lors du retraitement.
RUN.LOG	Entrées du journal générées au cours d'une analyse. Le journal conserve un enregistrement de l'analyse. Tous les messages d'erreur et les changements d'état importants du logiciel ChemStation sont consignés dans le journal.
LCDIAG.REG	Pour les systèmes LC uniquement. Contient les courbes d'instrument (gradients, température, pression, etc.), le volume d'injection et la description du solvant.
ACQRES.REG	Contient des informations de colonne. Pour les systèmes GC, il contient également le volume d'injection.

Tableau 7 Fichiers de données

Nom	Description
GLPSAVE.REG	Partie du fichier de données intégrée lorsque l'option Save GLP Data (Enregistrer les données BPL) est activée.
M_INTEV.REG	Contient les événements d'intégration manuelle.

La méthode peut être enregistrée avec les fichiers de résultats (run.m). Dans ce cas, le répertoire de méthode est enregistré en tant que sous-répertoire du répertoire du fichier de données à l'aide de l'option Save method with Data (Enregistrer la méthode avec les données) de la liste de contrôle d'analyse.

Pour les données obtenues avec le logiciel ChemStation version B.02.01 ou ultérieure, chaque dossier de données (*.D) comporte les deux dossiers de méthode suivants :

- dossier de la méthode d'acquisition (ACQ.M) pour chaque fichier de données,
- dossier de méthode d'analyse de données (DA.M) pour chaque fichier de données.

Étant donné qu'une méthode d'acquisition ACQ.M a pour objet de conserver les paramètres d'acquisition, il est recommandé de ne pas modifier cette méthode lors des révisions ultérieures des données. DA.M désigne la méthode d'analyse de données individuelle pour un un fichier de données spécifique. En cas d'actualisation de la table d'étalonnage, par exemple, les méthodes DA.M sont différentes pour chacune des analyses. Avec ChemStation B.03.01 ou ultérieur, ce comportement peut être désactivé en désactivant Unique Folder Creation (Création de dossiers uniques).

Moniteurs en temps réel

Il existe deux types de moniteurs en temps réel : le moniteur de signaux et le moniteur de spectres.

Moniteur de signaux en temps réel

Le moniteur de signaux en temps réel permet de contrôler plusieurs signaux et, s'ils sont pris en charge par l'instrument associé, les tracés de performances de l'instrument, dans la même fenêtre. Vous pouvez sélectionner, à votre convenance, les signaux à visualiser, et régler l'heure et l'axe d'absorbance. Les détecteurs qui prennent en charge cette fonction sont dotés d'un bouton de stabilisation.

Affichez la réponse de signal absolu dans la ligne du message en déplaçant le curseur en forme de croix sur l'écran.

Moniteur de spectres en temps réel

Le moniteur de spectres en temps réel n'est disponible que sur les ChemStations qui prennent en charge l'évaluation spectrale. Il affiche l'absorbance comme une fonction de la longueur d'onde. Vous pouvez régler à la fois la plage de longueurs d'onde et l'échelle d'absorbance à l'écran.

Journal

Le journal affiche les messages générés par le système d'analyse. Il s'agit des messages d'erreur, des messages système ou des messages d'événement provenant d'un module. Le journal enregistre ces événements, qu'ils soient affichés ou pas. Pour plus d'informations sur un événement du journal, double-cliquez sur la ligne correspondante pour afficher un texte d'aide descriptif.

Informations sur l'état

Etat de la ChemStation

La fenêtre d'état de la ChemStation affiche un récapitulatif de l'état du logiciel ChemStation.

Lorsqu'une analyse individuelle est en cours :

- la première ligne de la fenêtre d'état de la ChemStation affiche l'évolution de l'analyse en cours,
- la deuxième ligne de la fenêtre d'état affiche l'état de la méthode en cours et
- le nom du fichier de données brutes apparaît sur la troisième ligne, avec le temps d'analyse réel exprimé en minutes (pour un instrument CPG, les fichiers correspondant aux injecteurs avant et arrière apparaissent également).

Les fenêtres d'état d'instrument fournissent des informations sur l'état des détecteurs et des modules d'instrument. Elles affichent l'état des différents composés et, le cas échéant, les conditions en cours, par exemple, les données relatives à la pression, au gradient et au débit.

Barre d'état

L'interface utilisateur graphique du système ChemStation se compose de barres d'outils et d'une barre d'état dans la vue Method and Run Control (Contrôle de méthode et d'analyse). La barre d'état comprend un champ d'état du système et des informations sur la séquence et la méthode chargées. En cas de modification après leur chargement, elles sont identifiées par une icône représentant un engrenage jaune. Sur les modules Agilent série 1100/1200 pour CPL, un symbole jaune EMF (avertissement de maintenance prédictive) signale à l'utilisateur que les limites d'utilisation définies pour les consommables (par exemple, la lampe) sont dépassées.

Diagramme du système

Si cette option est prise en charge par les instruments d'analyse configurés (par exemple, les modules Agilent série 1100/1200 pour CPL ou CPG Agilent série 6890), vous pouvez afficher un schéma graphique de votre système ChemStation. Un simple coup d'œil suffit alors à vérifier l'état du système. Sélectionnez l'option System Diagram (Diagramme de système) dans le menu View (Affichage) de la vue Method and Run Control (Contrôle de méthode et d'analyse) pour activer le diagramme. Il s'agit d'une représentation graphique de votre système ChemStation. Chaque composant est représenté par une icône. L'état actif est illustré selon le codage couleur décrit ci-après.

Tableau 8 Codage couleur du diagramme du système

Couleur	Status
gris	inactif ou éteint
jaune	non prêt
vert	prêt
bleu	exécution
rouge	erreur

Il est également possible d'afficher des listes des paramètres en cours. Outre une présentation de l'état général, ce diagramme offre un accès rapide aux boîtes de dialogue permettant de configurer les paramètres de chaque composant du système.

Pour plus d'informations sur le diagramme du système, reportez-vous à la section de l'aide en ligne consacrée aux instruments.

4 Intégration

Qu'est-ce que l'intégration ? 75

Description 76

Les algorithmes d'intégration de la ChemStation 77

- Possibilités d'intégration 77

Description générale 79

- Définition de la ligne de base initiale 80
- Suivi de la ligne de base 80
- Attribution de la ligne de base 81
- Identification des points cardinaux d'un pic 82

Terminologie 84

- Points cardinaux 84
- Pic de solvant 84
- Épaulements (avant, arrière) 85
- Pente 85

Principe de fonctionnement 86

Identification d'un pic 87

- Largeur du pic 87
- Filtres de reconnaissance de pic 88
- Groupage 89
- Algorithme de reconnaissance de pic 90
- Calculs non gaussiens 94

Attribution de la ligne de base 96

- Construction de la ligne de base par défaut 96
- Le début de la ligne de base 97
- Graduations 97
- La fin de la ligne de base 97
- Pénétration de la ligne de base 98

Rapport pic / vallée 99
Intégration tangentielle 101
Pics non attribués 106
Codes de séparation des pics 107
Mesure d'aire de pic 109
Détermination de l'aire 109
Unités et facteurs de conversion 111
Événements d'intégration 112
Evénements initiaux 112
Événements programmés 115
Intégration automatique 115
Intégration manuelle 118

Ce chapitre décrit les concepts d'intégration des algorithmes d'intégration de ChemStation. Il décrit l'algorithme d'intégration, l'intégration et l'intégration manuelle.

Qu'est-ce que l'intégration ?

L'intégration identifie les pics dans un signal et calcule leur taille.

L'intégration est une étape indispensable pour :

- la quantification,
- les calculs de pureté des pics (ChemStations pour les systèmes LC 3D, CE, CE/MS et LC/MS uniquement), et
- la recherche de bibliothèque spectrale (ChemStation pour les systèmes LC 3D, CE, CE/MS et LC/MS uniquement).

Description

Lorsqu'un signal est intégré, le logiciel :

- identifie les temps de début et de fin de chaque pic et marque ces points à l'aide de graduations verticales,
- détecte le sommet de chaque pic, c'est-à-dire le temps de rétention/migration,
- construit une ligne de base, et
- calcule l'aire, la hauteur et la largeur de chaque pic.

Ce processus est contrôlé par des paramètres appelés événements d'intégration.

Les algorithmes d'intégration de la ChemStation

L'algorithme d'intégration ChemStation est la deuxième version d'une nouvelle génération qui vise à plus de robustesse, de fiabilité et de simplicité d'utilisation.

Possibilités d'intégration

Les algorithmes d'intégration comprennent les possibilités principales suivantes :

- une possibilité d'auto-intégration utilisée pour établir les paramètres d'intégration initiaux,
- la capacité de définir différentes tables d'événements d'intégration pour chaque signal de chromatographe/d'électrophérogramme si vous utilisez plusieurs signaux ou détecteurs,
- une définition interactive des événements d'intégration permettant aux utilisateurs de sélectionner sur un graphique le moment des événements,
- une intégration manuelle ou « élastique » de chromatogrammes/d'électrophorégrammes nécessitant une interprétation humaine (vous pouvez aussi enregistrer ces événements dans la méthode et les utiliser dans le cadre du processus automatisé),
- affichage et impression des résultats d'intégration, et
- capacité d'intégrer au moins 1 000 pics par chromatogramme/électrophérogramme.
- définitions de paramètres d'intégration permettant de régler ou de modifier les paramètres de l'intégrateur de base pour le rejet d'aire, le rejet de hauteur, la largeur de pic et la sensibilité de pente,
- paramètres de contrôle de la ligne de base, par exemple, forcer la ligne de base, maintenir la ligne de base, ligne de base passant par tous les points vallées, ligne de base au niveau de la vallée suivante, insertion d'une ligne de base arrière à partir de la fin du pic en cours,
- contrôle de la sommation d'aires,
- reconnaissance de pic négatif,

- traitement d'intégration tangentielle incluant les commandes de définition des pics de solvant, et
- possibilité de définir des tables d'événements de calculs d'intégration tangentielle sur front ou traînée individuellement pour tous les signaux de chromatographe/d'électrophérogramme,
- possibilité de paramètres de correction de ligne de base (sans relation au signal),
- commandes de l'intégrateur définissant les plages de temps de rétention/migration pour le bon fonctionnement de l'intégrateur.
- attribution de l'épaulement de pic par l'utilisation d'une dérivée seconde ou degré de calculs de courbure,
- échantillonnage amélioré de points de données non équidistants pour de meilleures performances avec des fichiers de données CPL DAD reconstruits à partir des spectres DAD.

Description générale

Pour intégrer un chromatogramme/électrophérogramme, l'intégrateur :

1. définit la ligne de base initiale,
2. surveille et met à jour en continu la ligne de base,
3. identifie le temps de début pour un pic et marque ce point avec une graduation verticale,
4. détermine l'emplacement du sommet de chaque pic et imprime le temps de rétention/migration,
5. identifie le temps de fin du pic et marque ce point avec une graduation verticale,
6. construit une ligne de base, et
7. calcule l'aire, la hauteur et la largeur de chaque pic.

Ce processus est contrôlé par des *événements d'intégration*. Les événements les plus importants sont les *sensibilité de pente initiale, largeur de pic, aire de rejet* et *hauteur de rejet*. le logiciel permet de définir des valeurs initiales pour ces événements, entre autres. Les valeurs initiales prennent effet au début du chromatogramme. De plus, la fonction d'intégration automatique comporte un ensemble d'événements initiaux que vous pouvez optimiser plus avant.

Dans la plupart des cas, les événements initiaux donnent de bons résultats d'intégration sur la totalité du chromatogramme, mais il est parfois souhaitable de mieux contrôler la progression d'une intégration.

Le logiciel permet de contrôler le mode d'intégration en vous permettant de programmer de nouveaux événements d'intégration à des temps appropriés dans le chromatogramme.

Pour plus d'informations, voir la section « Evénements initiaux », page 112.

Définition de la ligne de base initiale

Étant donné que les conditions de ligne de base dépendent de l'application et du matériel utilisé pour le détecteur, l'intégrateur utilise des paramètres de la méthode et du fichier de données pour optimiser la ligne de base.

Avant de pouvoir intégrer des pics, l'intégrateur doit définir un *point de ligne de base*. Au début de l'analyse, l'intégrateur définit un niveau de ligne de base initiale, en prenant le premier point de données comme ligne de base provisoire. Il essaie ensuite de redéfinir ce point de ligne de base initiale en se basant sur la moyenne du signal d'entrée. S'il n'obtient pas un point de ligne de base initiale redéfini, il conserve le premier point de données en tant que point de ligne de base initiale potentiel.

Suivi de la ligne de base

L'intégrateur échantillonne les données numériques à une fréquence déterminée par la largeur de pic initiale ou par la largeur de pic calculée, au fur et à mesure de l'analyse. Il considère chaque point de données comme un point de ligne de base potentiel.

L'intégrateur détermine une *enveloppe de ligne de base* à partir de sa pente. Dans l'algorithme de suivi, la pente est la dérivée première et la courbure la seconde dérivée. L'enveloppe de ligne de base peut être vue comme un cône, dont la pointe se situe au point de données en cours. Les niveaux d'acceptation supérieure et inférieure du cône sont :

- + pente montante + courbure + décalage de ligne de base doit être inférieur au niveau de seuil,
- - pente montante - courbure + décalage de ligne de base doit être plus positive (c'est-à-dire moins négative) que le niveau de seuil.

Au fur et à mesure de l'acceptation de nouveaux points de données, le cône avance jusqu'à l'apparition d'une rupture.

Pour être accepté comme point de ligne de base, un point de données doit répondre aux conditions suivantes :

- il doit se trouver à l'intérieur de l'enveloppe de ligne de base définie,

- la courbure de la ligne de base au point de donnée (déterminée par les filtres de dérivation), doit être inférieure à une valeur critique, déterminée par le réglage de sensibilité de pente en cours.

Le point de ligne de base initial, établi au début de l'analyse, est ensuite révisé continuellement à une fréquence déterminée par la largeur du pic, pour la moyenne mobile des points de données inclus dans l'enveloppe de la ligne de base sur une période déterminée par la largeur du pic. L'intégrateur suit et révise périodiquement la ligne de base pour compenser sa dérive, jusqu'à la détection d'un front montant de pic.

Attribution de la ligne de base

L'intégrateur définit la ligne de base du chromatographe/de l'électrophérogramme en cours d'analyse à une fréquence définie par la valeur de largeur de pic. Une fois que l'intégrateur a échantillonné un certain nombre de points de données, il redéfinit la ligne de base du point de ligne de base initial au point de ligne de base actuel. L'intégrateur reprend le suivi de la ligne de base sur les points de données suivants et redéfinit à nouveau la ligne de base. Ce processus continue jusqu'à ce que l'intégrateur identifie le début d'un pic.

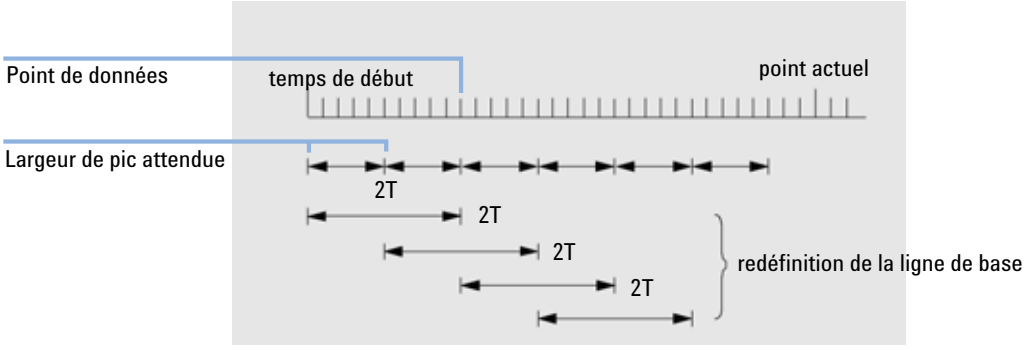


Figure 4 Ligne de base

Au début de l'analyse, ce réglage de ligne de base est utilisé en tant que ligne de base initiale. Si la valeur n'est pas définie, le premier point de données est utilisé. Ce point de données est ensuite redéfini périodiquement selon la formule suivante :

Les aires sont sommées sur un temps T (largeur de pic prévue). Ce temps ne peut jamais être plus court qu'un point de données. La procédure se poursuit tant que la condition sur la ligne de base existe. La pente et la courbure sont également calculées. Si la pente et la courbure sont toutes deux inférieures au seuil, deux aires sommées sont ajoutées, et comparées à la ligne de base précédente. Si la nouvelle valeur est inférieure à la ligne de base précédente, cette nouvelle valeur remplace immédiatement la précédente. Si la nouvelle valeur est supérieure à la précédente, elle est enregistrée en tant que valeur possible de nouvelle ligne de base et confirmée si une ou plusieurs valeurs sont conformes aux critères de pente et de linéarité de la courbure. Cette dernière limitation n'est pas appliquée si les pics négatifs sont autorisés. Pendant le suivi de la ligne de base, un contrôle doit également être effectué pour détecter les solvants à montée rapide. Ceux-ci peuvent être trop rapides pour la détection de front montant. (Au moment où la pente montante est confirmée, le critère de solvant peut ne plus être valide). A la première occurrence le premier point de données est sur la ligne de base. Il est remplacé par la moyenne sur 2 T si le signal est sur la ligne de base. La ligne de base est ensuite redéfinie à chaque période T (voir Figure 4, page 81).

Identification des points cardinaux d'un pic

L'intégrateur détermine qu'un pic pourrait débuter lorsque les points de ligne de base potentielle se situent hors de l'enveloppe de la ligne de base et que la courbure de la ligne de base dépasse une certaine valeur, définie par le seuil de sensibilité de pente de l'intégrateur. Si cette condition persiste, l'intégrateur reconnaît le front montant d'un pic, le pic est alors traité.

Début

1 Pente et courbure dans la limite : suivre la ligne de base.

2 Pente et courbure au-dessus de la limite : possibilité d'un pic.

3 La pente reste au-dessus de la limite : pic reconnu, point cardinal défini.

4 La courbure devient négative : point d'inflexion avant.

Sommet

1 La pente passe par zéro et devient négative : sommet du pic, point cardinal défini.

2 La courbure devient positive : point d'inflexion arrière.

Fin

1 Pente et courbure dans la limite : la fin du pic est proche.

2 La pente et la courbure restent dans la limite : fin du pic, point cardinal défini.

3 L'intégrateur revient en mode suivi de la ligne de base.

Terminologie

Points cardinaux

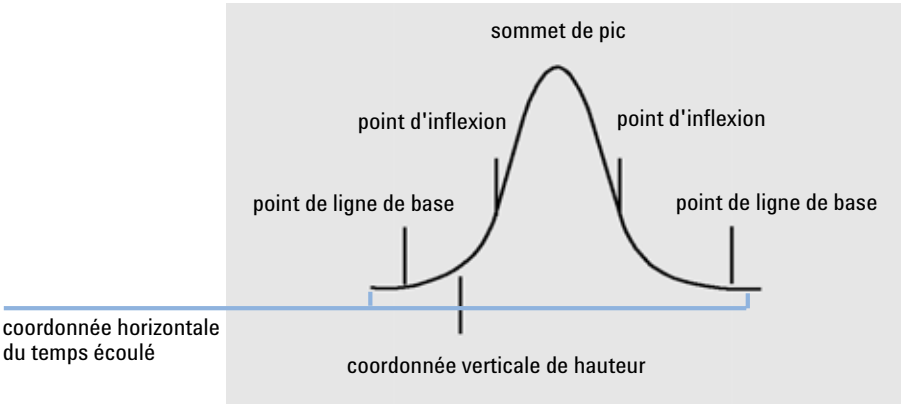


Figure 5 Points cardinaux

Les points cardinaux sont les points sélectionnés par l'intégrateur pour définir et quantifier un pic. Les points de ligne de base, les points de vallée, le sommet du pic et les points d'inflexion sont désignés comme étant des points cardinaux et sont enregistrés. Chaque point cardinal est caractérisé par une coordonnée horizontale de temps écoulé, une coordonnée verticale de hauteur à partir de la ligne de base et d'autres paramètres, par exemple le type de pic, les codes de séparation, les valeurs de début et de fin de pic potentiels, ainsi que les hauteurs, aires et pentes correspondantes, utilisés par l'intégrateur pour calculer les aires des pics.

Pic de solvant

Le pic de solvant est généralement très grand, mais ne joue aucun rôle sur le plan analytique et n'est pas intégré habituellement. Cependant, lorsque de petits pics, intéressants analytiquement parlant, sont élués tout près du pic de

solvant, par exemple, pendant la traînée du pic de solvant, des conditions d'intégration particulière peuvent être définies pour calculer une aire qui tient compte de la traînée du pic de solvant.

Épaulements (avant, arrière)

Les épaulements apparaissent quand deux pics sont si proches qu'il n'existe plus de vallée entre eux, ils ne sont donc pas résolus. Les épaulements peuvent apparaître sur le front montant (avant) du pic ou sur le front descendant (traîne) du pic. Lors de la détection d'épaulement, il est possible de les intégrer par intégration tangentielle ou projection sur la ligne de base.

Pente

La pente d'un pic reflète le changement de la concentration du composé en fonction du temps, elle sert à déterminer le point de départ du pic, son sommet et sa fin.

Principe de fonctionnement

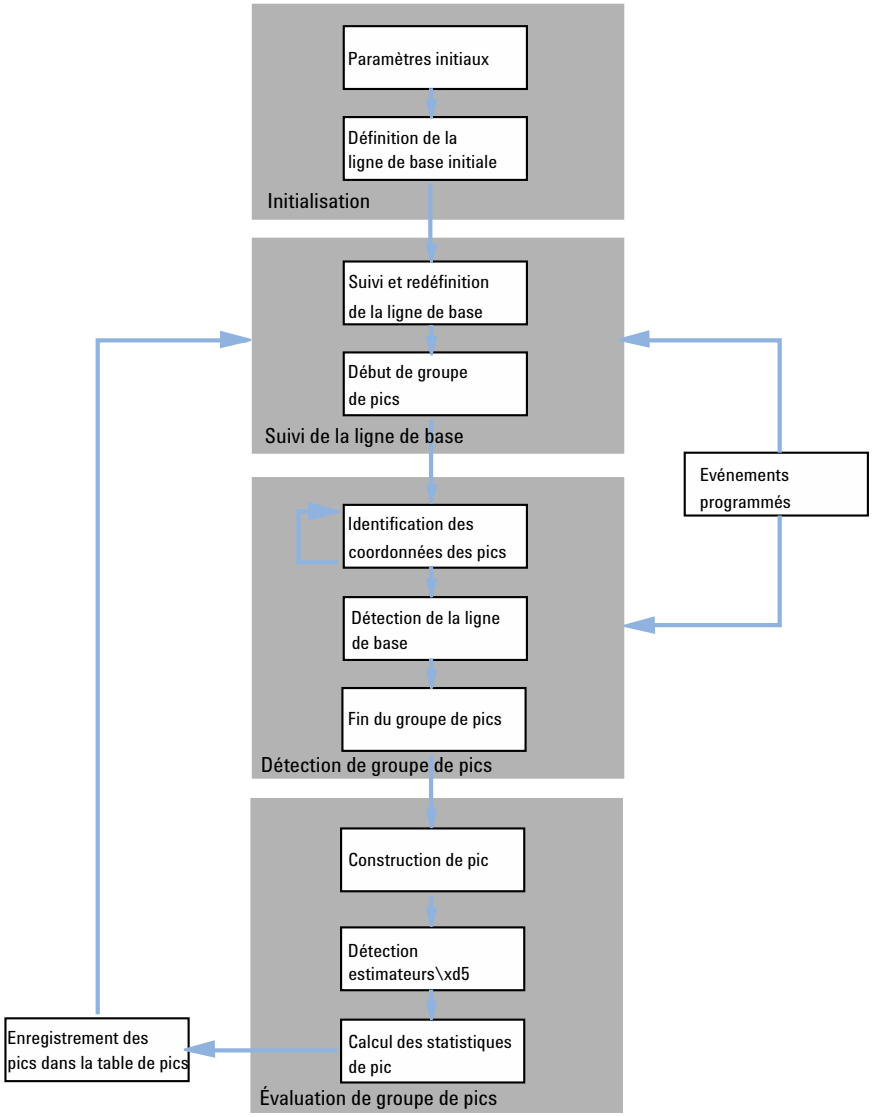

Paramètres initiaux
Définition de la ligne de base initiale
Initialisation
Suivi et redéfinition de la ligne de base
Début de groupe de pics
Suivi de la ligne de base
Evénements programmés
Identification des coordonnées des pics
Détection de la ligne de base
Fin du groupe de pics
Détection de groupe de pics
Construction de pic
Détection estimateurs\xd5
Calcul des statistiques de pic
Enregistrement des pics dans la table de pics
Évaluation de groupe de pics

Figure 6 Diagramme de fonctionnement de l'intégrateur

Identification d'un pic

L'intégrateur utilise différents outils pour reconnaître et caractériser un pic :

- la largeur du pic,
- les filtres de reconnaissance du pic,
- le regroupement de tranches d'intégration (bunching),
- l'algorithme de reconnaissance du pic,
- l'algorithme de sommet du pic, et
- des calculs non gaussiens (par exemple de traînée, fusion de pics).

Largeur du pic

Pendant l'intégration, la largeur du pic est calculée à partir de l'aire et de la hauteur du pic :

Largeur = Aire/Hauteur

ou bien, si les points d'inflexion sont disponibles, à partir de la largeur entre les points d'inflexion.

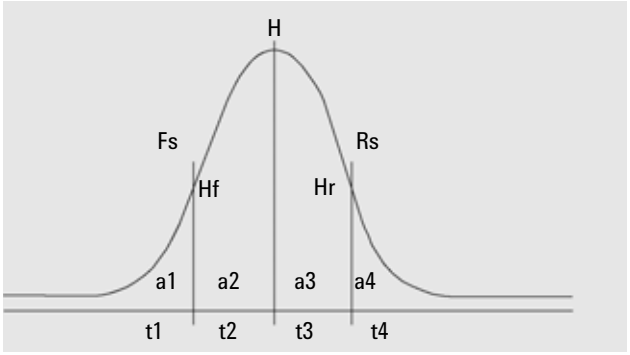


Figure 7 Calcul de largeur de pic

Sur la figure Calcul des largeurs de pics, l'aire totale, A, est la somme des aires a1, a2, a3 et a4. Fs est la pente frontale au point d'inflexion, Rs est la pente de traîne au point d'inflexion. Si l'un ou l'autre point d'inflexion est introuvable, la largeur de pic est définie par :

Largeur = Aire ajustée/Hauteur ajustée

Le paramètre de largeur de pic contrôle la capacité de l'intégrateur à distinguer les pics du bruit de la ligne de base. Pour obtenir de bonnes performances, la largeur du pic définie doit être proche de la largeur des pics chromatographiques / électrophorétiques réels.

La largeur du pic peut être modifiée de trois façons :

- avant l'analyse, vous pouvez spécifier la largeur initiale du pic,
- pendant l'analyse, l'intégrateur met automatiquement à jour la largeur du pic de manière à maintenir une bonne correspondance avec les filtres de reconnaissance de pic,
- au cours de l'analyse, il est possible de redéfinir ou modifier la largeur de pic par un événement programmé dans le temps.

Pour consulter les définitions de largeur de pic utilisées par les calculs de conformité du système, voir la section « Largeur du pic », page 87.

Filtres de reconnaissance de pic

L'intégrateur comporte trois filtres de reconnaissance de pic qu'il utilise pour reconnaître les pics en détectant des variations de la pente et de la courbure dans un ensemble de points de données contigus. Ces filtres utilisent la dérivée première (pour mesurer la pente) et la dérivée seconde (pour mesurer la courbure) des points de données analysés par l'intégrateur. Les filtres de reconnaissance sont :

Filtre 1 Pente (courbure) de deux (trois) points de données contigus

Filtre 2 Pente de quatre points de données contigus et courbure de trois points de données non contigus

Filtre 3 Pente de huit points de données contigus et courbure de trois points de données non contigus

Le filtre réel utilisé est déterminé par le paramètre de largeur de pic. Par exemple, au début d'une analyse, le filtre 1 peut être utilisé. Si la largeur de pic augmente au cours de l'analyse, le filtre passe d'abord au filtre 2, puis au filtre 3. Pour que les filtres de reconnaissance soient performants, vous devez attribuer à la largeur de pic une valeur proche de la largeur effective des pics de chromatographe / électrophérogramme. Au cours de l'analyse, l'intégrateur met à jour la largeur de pic pour optimiser l'intégration, si nécessaire.

L'intégrateur calcule la largeur de pic mise à jour de différentes façons, suivant la configuration d'instrument :

Pour les configurations LC/CE, le calcul de largeur de pic par défaut utilise un calcul composite :

0,3 x (Point d'infelexion droit - Point d'inflexion gauche) + 0,7 x Aire/Hauteur

Pour les configurations GC, le calcul de largeur de pic par défaut utilise le rapport aire/hauteur. Ce calcul ne surestime pas la largeur lorsque des pics sont fusionnés au-dessus du point de mi-hauteur.

Dans certains types d'analyse, par exemple les analyses GC isothermes et LC isocratiques, les pics peuvent s'élargir de manière significative au cours de l'analyse. Pour compenser cela, l'intégrateur met à jour automatiquement la largeur du pic au fur et à mesure que les pics s'élargissent en cours d'analyse. Ceci est effectué automatiquement, sauf si la mise à jour a été désactivée ou la largeur de pic a été définie à une valeur spécifique par un événement programmé.

La mise à jour de largeur de pic est pondérée de la façon suivante :

0,75 x (largeur de pic existante) + 0,25 x (largeur du pic actuel)

Si un événement d'intégration programmé désactive ou définit la largeur du pic à une valeur particulière, l'ajustement automatique de largeur de pic est désactivé.

Groupage

Le groupage est le moyen utilisé par l'intégrateur pour maintenir les pics élargis dans la plage efficace des filtres de reconnaissance de pic et conserver une bonne sélectivité.

L'intégrateur ne peut continuer à augmenter indéfiniment la largeur de pic. Finalement, les pics peuvent être tellement élargis que les filtres de reconnaissance de pic ne pourraient plus les détecter. Pour surmonter cette limitation, l'intégrateur regroupe les points de données, ce qui revient à rétrécir le pic en conservant la même aire.

Les données sont groupées par deux à la puissance de groupage, c'est-à-dire que non groupés = 1x, groupés une fois = 2x, groupés deux fois = 4x, etc.

Le groupage est basé sur la fréquence des données et la largeur de pic. L'intégrateur utilise ces paramètres pour définir le facteur de groupage afin d'obtenir le nombre approprié de points de données Tableau 9, page 90.

Le groupage est effectué par puissance de deux en fonction de la largeur de pic attendue ou observée. L'algorithme de groupage est résumé dans Tableau 9, page 90.

Tableau 9 Critères de groupage

Largeur de pic attendue	Filtre(s) utilisé(s)	Groupage effectué
0 à 10 points de données	Premier	Aucun
8 à 16 points de données	Deuxième	Aucun
12 à 24 points de données	Troisième	Aucun
16 à 32 points de données	Deuxième	Une fois
24 à 48 points de données	Troisième	Une fois
32 à 96 points de données	Troisième, deuxième	Deux fois
64 à 192 points de données	Troisième, deuxième	Trois fois

Algorithme de reconnaissance de pic

L'intégrateur identifie le début du pic avec un point de ligne de base déterminé par l'algorithme de reconnaissance de pic. L'algorithme de reconnaissance de pic compare dans un premier temps les sorties des filtres de reconnaissance de pic à la valeur de sensibilité de pente initiale pour augmenter ou diminuer le compteur de pente montante. L'intégrateur identifie le point auquel la valeur de l'accumulateur de pente montante est ≥ 15 fois le point qui indique qu'un pic a commencé.

L'algorithme de reconnaissance de pic est représenté dans Figure 8, page 91.

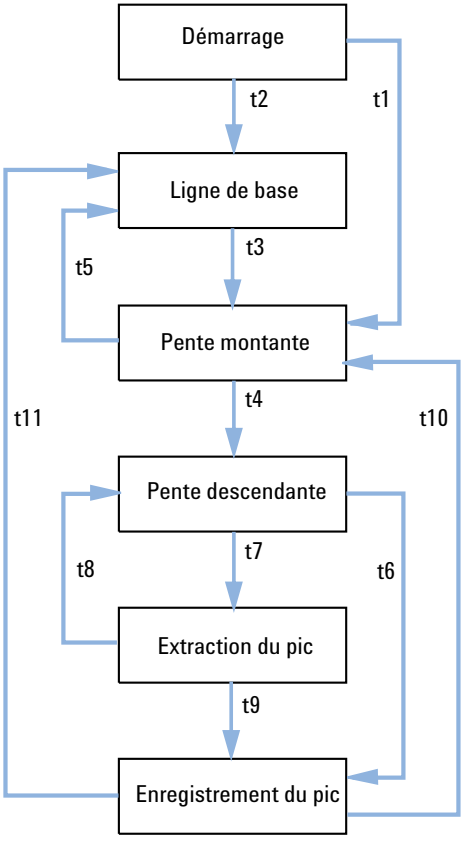


Figure 8 Reconnaissance de pic

Les critères sont les suivants :

t1 Le compteur de pente montante est supérieur ou égal à 1

t2 Le compteur de pente montante est égal à zéro

t3 Le compteur de pente montante est supérieur ou égal à 2

t4
- Sommet de pic détecté et largeur de pic à mi-hauteur détectée ou
- Sommet de pic détecté et compteur de pente descendante supérieur ou égal à 2

t5
- Abandon de pic ou
- Réinitialisation immédiate de la ligne de base

t6
- Vallée de pic détectée et compteur de pente montante supérieur ou égal à 2 ou
- Écart type de pente descendante supérieur à deux fois l'écart type de fin de pic ou
- Réinitialisation immédiate de la ligne de base ou
- Réinitialisation de la ligne de base à la vallée suivante et vallée de pic détectée

t7 Le critère de pente descendante n'est plus satisfait

t8 Le critère de pente descendante est à nouveau satisfait

t9
- Vallée de pic détectée et compteur de pente montante supérieur ou égal à 2 ou
- Compteur de pente descendante égal à zéro ou
- Sigma de pente descendante supérieur à l'écart type de fin de pic ou
- Réinitialisation immédiate de la ligne de base ou
- Réinitialisation de la ligne de base à la vallée suivante

t10 Compteur de pente montante supérieur ou égal à 2

t11 Compteur de pente montante inférieur ou égal à 1

Début de pic

Dans Tableau 10, page 93, la largeur de pic attendue détermine quelles valeurs de pente et de courbure de filtre sont comparées à la sensibilité de pente. Par exemple, quand la largeur de pic attendue est faible, les valeurs du filtre 1 sont ajoutées au compteur de pente montante. Si la largeur de pic attendue augmente, les valeurs du filtre 2 et finalement celles du filtre 3 sont utilisées.

Lorsque la valeur du compteur de pente montante est ≥ 15, l'algorithme reconnaît un début de pic potentiel.

Tableau 10 Valeurs incrémentales de l'accumulateur de pente montante

Sorties des filtres de dérivée 1 – 3 en fonction du seuil de sensibilité de pente	Filtre 1	Filtre 2	Filtre 3
Pente > Seuil	+8	+5	+3
Courbure > Seuil	+0	+2	+1
Pente < (-) Seuil	-8	-5	-3
Pente > |Seuil|	-4	-2	-1
Courbure < (-) Seuil	-0	-2	-1

Fin du pic

Dans Tableau 11, page 93, la largeur de pic attendue détermine quelles valeurs de pente et de courbure de filtre sont comparées à la sensibilité de pente. Par exemple, si la largeur de pic attendue est faible, les valeurs du filtre 1 sont ajoutées au compteur de pente descendante. Si la largeur de pic attendue augmente, les valeurs du filtre 2 et finalement celles du filtre 3 sont utilisées.

Lorsque la valeur du compteur de pente descendante est ≥ 15, l'algorithme détecte une fin de pic potentielle.

Tableau 11 Valeurs incrémentales pour l'accumulateur de pente descendante

Sorties des filtres de dérivée 1 – 3 en fonction du seuil de sensibilité de pente	Filtre 1	Filtre 2	Filtre 3
Pente > Seuil	+8	+5	+3
Courbure > Seuil	+0	+2	+1
Pente < (-) Seuil	-11	-7	-4
Pente > |Seuil|	-28	-18	-11
Courbure < (-) Seuil	-0	-2	-1

Algorithme de sommet de pic

Le sommet de pic est détecté comme étant le point le plus haut du chromatogramme par construction d'un ajustement parabolique passant par les points de données les plus hauts.

Calculs non gaussiens

Pics fusionnés

La fusion de pics se produit en cas de début d'un nouveau pic avant que la fin du pic soit détectée. La figure illustre comment l'intégrateur gère les pics fusionnés.

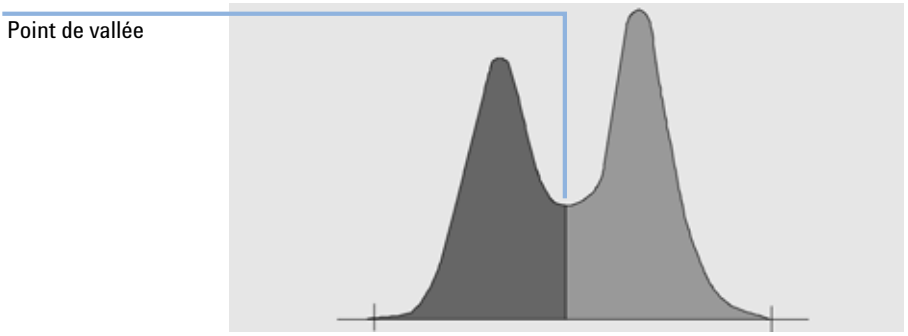


Figure 9 Pics fusionnés

L'intégrateur gère les pics fusionnés de la façon suivante :

1. il cumule l'aire du premier pic jusqu'au point de vallée.
2. au point de vallée, la sommation d'aire pour le premier pic se termine et la sommation pour le second pic commence.
3. lorsque l'intégrateur localise la fin du second pic, la sommation d'aire s'arrête. Ce processus peut être considéré comme une séparation des pics fusionnés en traçant une ligne perpendiculaire partant du point de vallée entre les deux pics.

Épaulements

Les épaulements sont des pics non résolus sur le front ou la traîne d'un pic de plus grande taille. Il n'y a pas de vraie vallée, c'est-à-dire une pente négative suivie par une pente positive. Un pic peut avoir un nombre quelconque d'épaulements avant et/ou arrière.

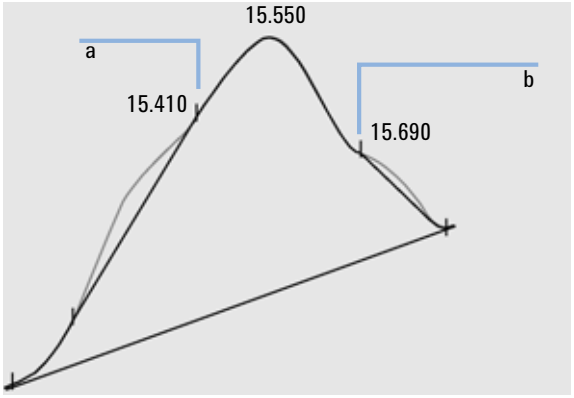


Figure 10 Épaulements de pic

Les épaulements sont détectés à partir de la courbure du pic, mesurée par la dérivée seconde. Quand la courbure passe par zéro, l'intégrateur identifie un point d'inflexion, tels que les points a et b sur Figure 10, page 95.

- Un épaulement avant potentiel est signalé si un second point d'inflexion est détecté avant le sommet du pic. Si un épaulement est confirmé, le début de l'épaulement est défini au point de courbure positive maximale avant le point d'inflexion.
- La détection d'un second point d'inflexion avant la fin du pic ou la vallée indique la possibilité d'un épaulement arrière. Si un épaulement est confirmé, le début de cet épaulement est défini au point cible à partir du point de départ sur la courbe.

Le temps de rétention/migration est déterminé à partir du point de courbure négative maximale de l'épaulement. Avec un événement d'intégration programmé, l'intégrateur peut également calculer les aires d'épaulement comme des pics normaux avec des lignes verticales aux points d'inflexion du pic d'épaulement.

L'aire de l'épaulement est soustraite du pic principal.

Les épaulements du pic peuvent être traités comme des pics normaux à l'aide d'un événement programmé de l'intégrateur.

Attribution de la ligne de base

Une fois qu'un groupe de pics est terminé et que la ligne de base est détectée, l'intégrateur demande à l'algorithme d'attribution d'attribuer la ligne de base par une technique d'essais et d'erreurs. Il utilise des corrections d'aire trapézoïdale et de hauteur proportionnelle afin de normaliser et maintenir la ligne de base la plus basse possible. Les entrées dans l'algorithme d'attribution de la ligne de base comprennent également des paramètres des fichiers de méthodes et de données identifiant le détecteur et l'application utilisés par l'intégrateur pour optimiser ses calculs.

Construction de la ligne de base par défaut

Dans les cas les plus simples, l'intégrateur construit la ligne de base comme une suite de segments de droite entre :

- le début de la ligne de base,
- les graduations,
- la fin du pic.

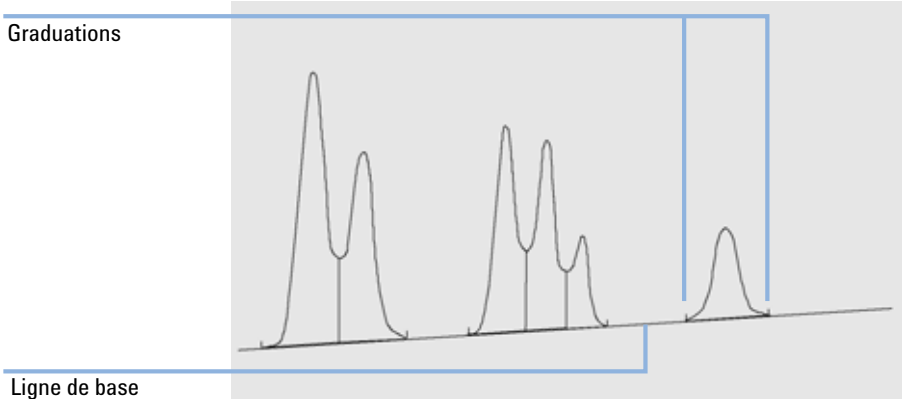


Figure 11 Construction de la ligne de base par défaut

Le début de la ligne de base

Si aucune ligne de base n'est détectée au début de l'analyse, le début de la ligne de base est défini d'une des manières suivantes :

- du début de l'analyse au premier point de ligne de base, si le point de début de l'analyse est plus bas que le premier point de la ligne de base,
- du début de l'analyse au premier point de vallée, si le point de début de l'analyse est plus bas que la première vallée,
- du début de l'analyse au premier point de vallée, si la première vallée pénètre une ligne imaginaire tracée du début de l'analyse à la première ligne de base,
- du début de l'analyse à une ligne de base horizontale prolongée depuis le premier point de la ligne de base.

Graduations

Les graduations identifient le début et la fin d'un pic. Leurs positions sont déterminées par les temps de début du pic et de fin du pic enregistrés dans la table des pics.

La fin de la ligne de base

Le dernier point validé de la ligne de base sert à désigner la fin de la ligne de base. Quand l'analyse ne se termine pas sur la ligne de base, la fin de la ligne de base est calculée à partir du dernier point de ligne de base valable jusqu'à la dérive connue de la ligne de base.

Si un pic se termine sur une vallée apparente mais que le pic suivant se trouve en dessous de la valeur de rejet d'aire définie, la ligne de base est projetée à partir du début du pic jusqu'au vrai point de ligne de base suivant. Si un pic débute de manière similaire, la même règle s'applique.

Pénétration de la ligne de base

Une pénétration est définie par une diminution du signal au-dessous de la ligne de base construite (point a sur Figure 12, page 98). En cas de pénétration de la ligne de base, cette partie de la ligne de base est généralement reconstruite, comme décrit par les points b sur Figure 12, page 98.

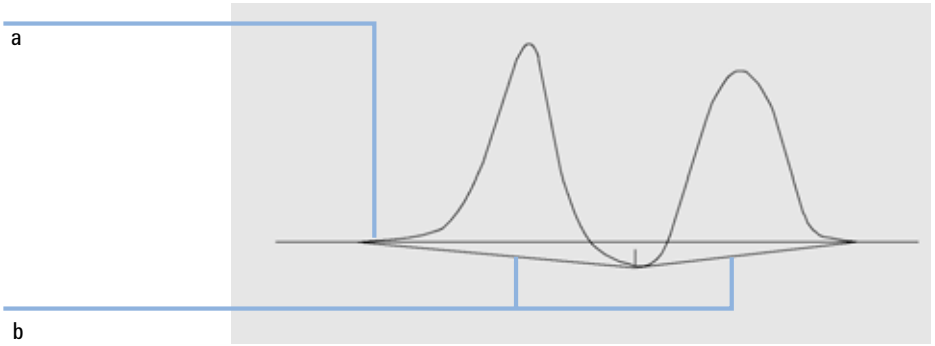


Figure 12 Pénétration de la ligne de base

Les options suivantes de surveillance permettent de supprimer toutes les pénétrations de la ligne de base :

Suivi de ligne de base conventionnel (sans pénétration)

Lorsque cette option est sélectionnée, une recherche de pénétration de la ligne de base est effectuée sur chaque groupe de pics. Si des pénétrations sont détectées, les points de début et/ou de fin du pic sont décalés jusqu'à ce que toutes les pénétrations soient éliminées (comparer les lignes de base sur Figure 12, page 98 et Figure 13, page 99).

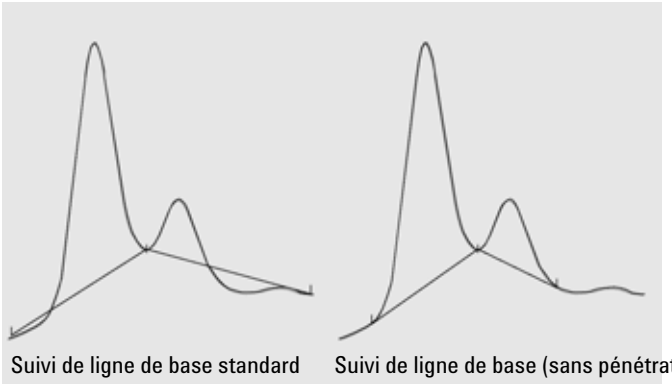


Figure 13 Suivi standard de ligne de base et suivi de ligne de base (sans pénétration)

REMARQUE Le suivi de ligne de base (sans pénétration) n'est pas disponible pour les pics de solvant, avec leurs pics dépendants et épaulements.

Suivi de ligne de base avancé

Dans le mode de suivi de ligne de base avancé, l'intégrateur tente d'optimiser les positions de début et de fin de pic, il redéfinit la ligne de base pour un groupe de pics et supprime les pénétrations de ligne de base (voir Figure 12, page 98). Dans d enombreux cas, le mode de suivi de ligne de base avancé conduit à une ligne de base plus stable, qui est moins dépendante de la sensibilité de pente.

Rapport pic / vallée

Ce paramètre personnalisé est utilisé dans le mode de suivi de ligne de base avancé. Il permet de décider si deux pics qui ne présentent pas de séparation de ligne de base sont séparés par une ligne verticale ou un point de vallée. L'intégrateur calcule le rapport entre la hauteur corrigée par la ligne de base du pic le plus petit et la hauteur corrigée par la ligne de base de la vallée. Si le rapport pic / vallée est inférieur à la valeur spécifiée par l'utilisateur, une ligne verticale est utilisée ; sinon, une ligne de base est tracée à partir de la ligne de

base au début du premier pic jusqu'à la vallée, puis de la vallée à la ligne de base à la fin du deuxième pic (comparer Figure 13, page 99 à Figure 14, page 100).

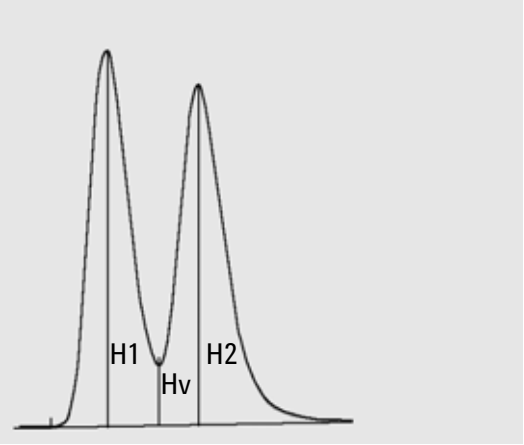


Figure 14 Rapport pic / vallée

Le rapport pic / vallée est calculé à l'aide des équations suivantes :

H1 ≥ *H2, Rapport pic / vallée = H2/Hv*

et

H1 < H2, Rapport pic / vallée = H1/Hv

La Figure 15, page 101 illustre comment la valeur du rapport pic vallée définie par l'utilisateur affecte les lignes de base.

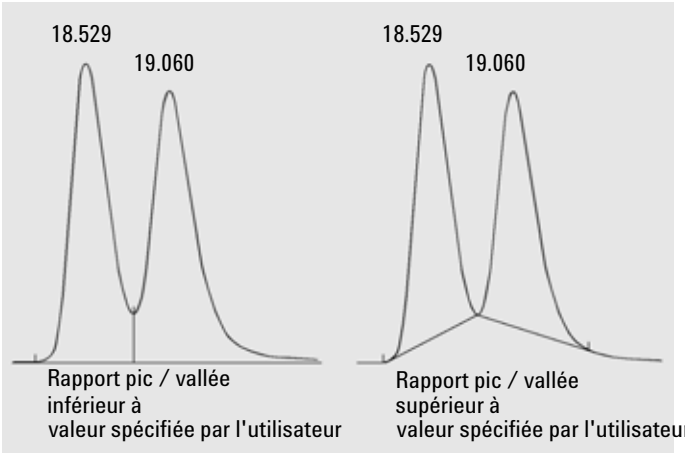


Figure 15 Effet du rapport pic / vallée sur les lignes de base

Intégration tangentielle

L'intégration tangentielle est une forme de ligne de base construite pour les pics détectés sur le front ou la traîne d'un autre pic. Si l'intégration tangentielle est activée, quatre modèles permettent de calculer les aires des pics correspondants :

- ajustement de courbe exponentielle,
- nouvelle approximation exponentielle
- approximation linéaire,
- combinaison de calculs de régression exponentiel et linéaire (approximations standard).

Ajustement de courbe exponentiel

Ce modèle d'intégration tangentielle trace une courbe à l'aide d'une équation exponentielle passant par le début et la fin du sous-pic (la hauteur du début du sous-pic est corrigée par la pente du pic principal). La courbe passe sous chaque sous-pic qui suit le pic principal ; l'aire sous la courbe d'approximation est soustraite des sous-pics et ajoutée au pic principal (voir Figure 17, page 102).

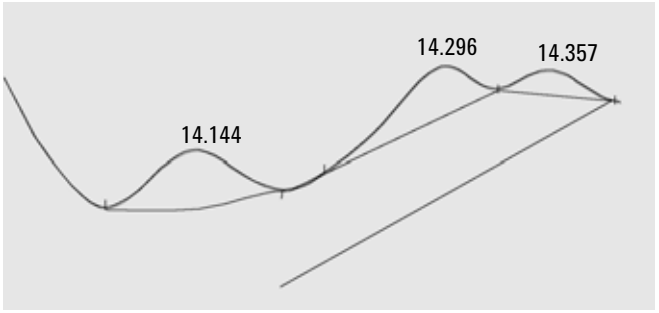


Figure 16 Approximation exponentielle

Nouveau mode d'ajustement de courbe exponentiel

Ce modèle tangentiel trace une courbe en utilisant une équation exponentielle pour obenir une approximation du front ou de la traînée du pic principal. La courbe passe sous un ou plusieurs pics qui suivent le pic principal (sous-pics). L'aire sous la courbe tangentielle est soustraite des sous-pics et ajoutée au pic principal. Plus d'un sous-pic peut être écrêté en utilisant le même modèle exponentiel ; tous les pics après le premier sous-pic sont séparés par des lignes verticales, à partir de la fin du premier sous-pic, et sont abaissés uniquement à la tangente (voir Figure 17, page 102).

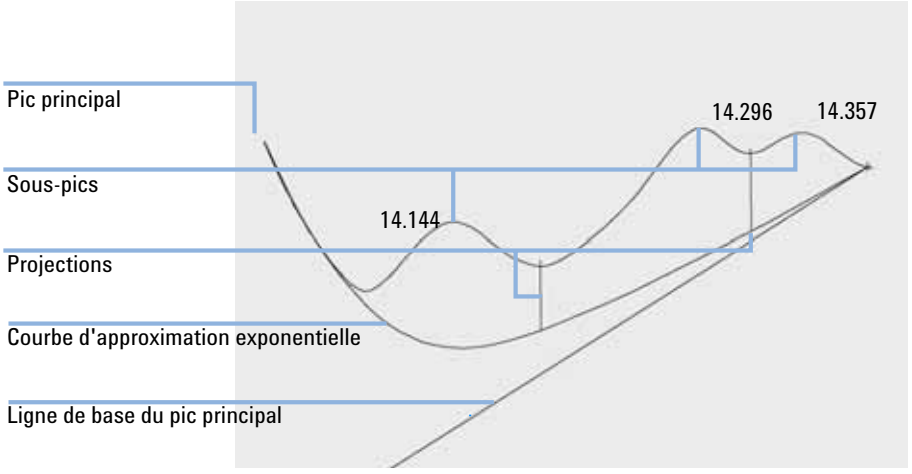


Figure 17 Nouveau mode d'approximation exponentielle

Approximation linéaire

Ce modèle d'approximation trace un segment de droite du début à la fin d'un sous-pic. La hauteur du début du sous-pic est corrigée par la pente du pic principal. L'aire sous le segment de droite est soustraite du sous-pic et ajoutée au pic principal (voir Figure 18, page 103).

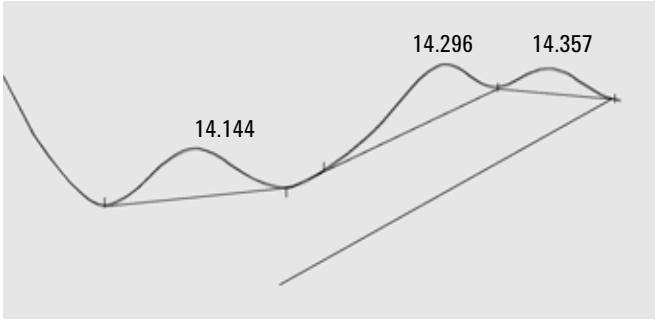


Figure 18 Approximation linéaire

Approximations standard

Le calcul approprié est choisi en fonction de l'application ; par défaut, la méthode choisie est une combinaison de calculs exponentiels et linéaires permettant d'obtenir le meilleur ajustement.

Le passage du calcul exponentiel au calcul linéaire est effectué de manière à éliminer des discontinuités importantes de hauteur ou d'aire.

- Lorsque le signal est nettement au-dessus de la ligne de base, le calcul d'ajustement de traîne est exponentiel.
- Si le signal se situe dans l'enveloppe de la ligne de base, le calcul d'ajustement de traîne est une ligne droite.

Les calculs combinés sont indiqués en tant qu'intégration exponentielle ou tangentielle.

Critères d'approximation

Deux critères déterminent l'utilisation d'une droite d'approximation pour calculer l'aire d'un sous-pic élué sur la traîne d'un pic principal :

- rapport hauteur / traîne d'approximation
- rapport hauteur / vallée

Ces critères ne sont pas utilisés si un événement programmé est actif pour une exponentielle, ou si le pic principal est lui-même un sous-pic. Le code de séparation entre le pic principal et le sous-pic doit être du type **Valley**.

Le **Tail Skim Height Ratio** est le rapport de la hauteur corrigée de la ligne de base du pic parent (Hp sur la Figure 19, page 104) à la hauteur corrigée par la ligne de base du sous-pic (Hc). Ce rapport doit être supérieur à la valeur indiquée pour que le sous-pic soit intégré.

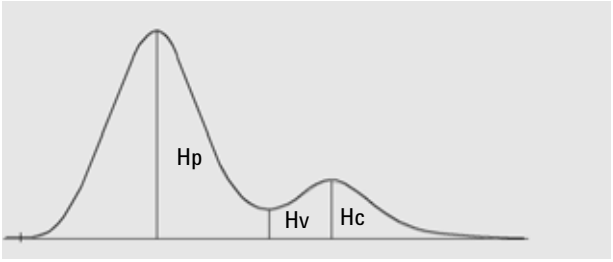


Figure 19 Critères d'écrêtage

Il est possible de désactiver l'ajustement exponentiel dans toute l'analyse en définissant la valeur du rapport hauteur / traîne d'approximation à une valeur élevée ou à zéro.

Le **Valley Height Ratio** est le rapport de la hauteur du sous-pic au-dessus de la ligne de base (Hc sur la Figure 19, page 104) à la hauteur de la vallée au-dessus de la ligne de base (Hv sur la même figure). Ce rapport doit être inférieur à la valeur spécifiée pour que le sous-pic soit écrêté.

Calcul d'ajustement de courbe exponentiel pour l'écrêtage

L'équation suivante permet de calculer une approximation exponentielle (voir Figure 22, page 106) :

$$Hb = Ho \times exp\,(-B \times (Tr - To)) + A \times Tr + C$$

où

Hb = hauteur de l'approximation exponentielle au temps Tr

Ho = hauteur (au-dessus de la ligne de base) du début de l'approximation exponentielle

B = facteur de décroissance de la fonction exponentielle

To = temps correspondant au début de l'approximation exponentielle

A = pente de la ligne de base du pic principal

C = décalage de la ligne de base du pic principal

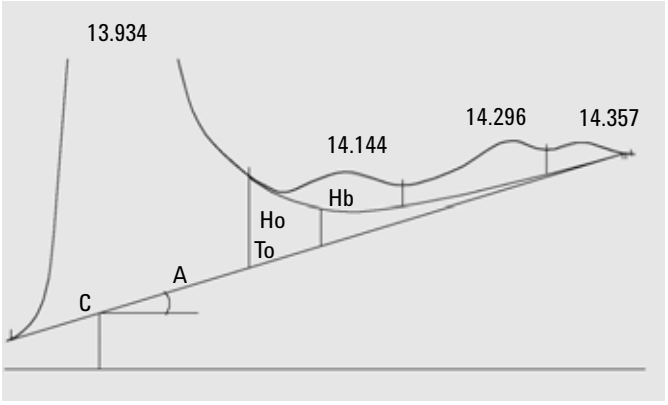


Figure 20 Valeurs utilisées pour calculer une approximation exponentielle

Le modèle exponentiel est ajusté sur la partie de la traîne du pic principal située immédiatement avant le premier sous-pic. Figure 21, page 105 illustre la courbe corrigée d'un sous-pic après approximation tangentielle.

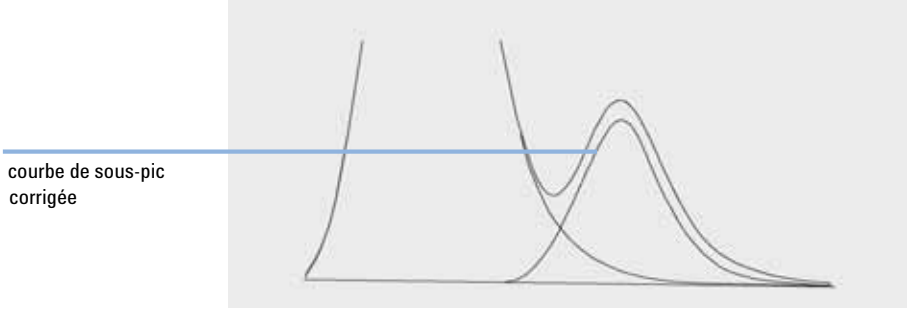


Figure 21 Sous-pic corrigé de la traîne

Approximation de front de pic

Comme pour les sous-pics sur la traîne d'un pic principal, une intégration spéciale est nécessaire pour certains pics situés sur le front ou pente montante d'un pic, voir Figure 22, page 106.

Figure 22 Approximation de front de pic

L'approximation de front de pic est traitée de la même façon que l'approximation de traîne, en utilisant les mêmes modèles d'approximation.

Les critères d'approximation sont :

- rapport hauteur / front d'approximation
- rapport hauteur / vallée

Le rapport hauteur vallée a la même valeur pour l'approximation de front de pic que pour l'approximation de traîne (voir « Rapport hauteur / vallée »). Le rapport hauteur / front est calculé comme le rapport hauteur / traîne (voir « Rapport hauteur / traîne »), mais peut avoir une valeur différente.

Pics non attribués

Pour certaines constructions de ligne de base, des petites aires peuvent être au-dessus de la ligne de base et au-dessous du signal, mais ne font pas partie des pics identifiés. Ces aires ne sont normalement ni mesurées, ni présentées dans les rapports. Si l'option unassigned peaks (Pics non attribués) est activée, ces aires sont mesurées et mentionnées dans le rapport comme étant des pics non attribués. Le temps de rétention/migration pour ces aires est le point central entre le début et la fin de l'aire, comme indiqué sur la Figure 23, page 107.

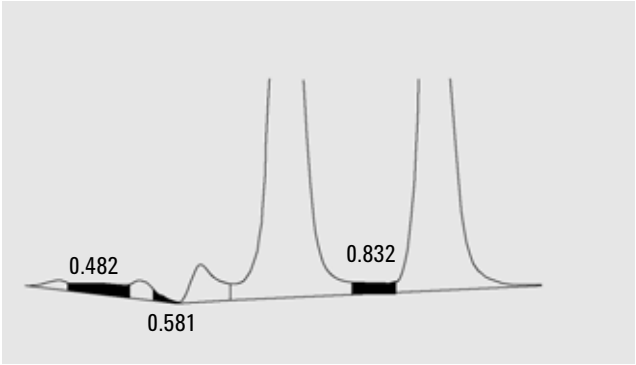


Figure 23 Pics non attribués

Codes de séparation des pics

Dans les rapports, chaque pic se voit attribuer un code à deux, trois ou quatre caractères décrivant le mode de tracé de la ligne de base.

Caractères 1 et 2

Le premier caractère indique la ligne de base du début du pic, le deuxième caractère décrit la ligne de base à la fin du pic.

B Le pic a commencé ou s'est arrêté sur la ligne de base.

V Le pic a commencé ou s'est arrêté par une ligne verticale de vallée.

P Le pic a commencé ou s'est arrêté pendant la pénétration de la ligne de base.

H Le pic a commencé ou s'est arrêté sur une ligne de base horizontale forcée.

F Le pic a commencé ou s'est arrêté sur un point forcé.

M Le pic a été intégré manuellement.

U Le pic n'était pas attribué.

D'autres indicateurs peuvent être ajoutés (en ordre de priorité) :

Caractère 3

D Pic déformé.

A Intégration abandonnée.

U Détection de limite inférieure de plage.

O Détection de limite supérieure de plage.

Caractère 4

Le quatrième caractère décrit le type du pic :

S Le pic est un pic de solvant.

N Le pic est négatif.

+ Le pic est une sommation d'aires.

T Pic calculé par intégration tangentielle (approximation standard)

X Pic calculé par intégration tangentielle (approximation exponentielle ancien mode).

E Pic calculé par intégration tangentielle (approximation exponentielle nouveau mode).

m Pic défini par une ligne de base manuelle.

n Pic négatif défini par une ligne de base manuelle.

t Pic à intégration tangentielle défini par une ligne de base manuelle.

R Le pic est un pic de solvant recalculé.

f Pic défini par une tangente d'épaulement de front.

b Pic défini par une tangente d'épaulement de traîne.

F Pic défini par une projection verticale d'épaulement de front.

B Pic défini par une projection verticale d'épaulement de traîne.

U Pic non attribué.

Mesure d'aire de pic

La dernière étape de l'intégration de pic consiste à déterminer son aire finale.

Les aires de pic sont calculées à partir du contenu du fichier de points cardinaux. Les points cardinaux sont les points sélectionnés par l'intégrateur pour définir et quantifier un pic (voir « Identification des points cardinaux d'un pic », page 82). Ce sont les points de ligne de base, les points de vallée, le sommet du pic, les points à mi-hauteur du pic. Les points cardinaux ont une coordonnée horizontale de temps écoulé, une coordonnée verticale de hauteur à partir de la ligne de base, l'aire et d'autres paramètres que l'intégrateur utilise pour calculer les aires de pic.

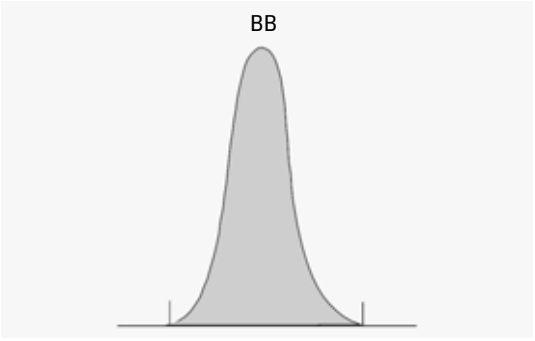


Figure 24 Mesure d'aire pour des pics de ligne de base à ligne de base

Dans le cas d'un pic simple isolé, l'aire de pic est déterminée par l'aire cumulée au-dessus de la ligne de base entre le début et la fin du pic (identifiée par des graduations).

Détermination de l'aire

L'aire que l'intégrateur calcule pendant l'intégration est déterminée de la manière suivante :

- pour des pics de ligne de base à ligne de base (BB), l'aire est au-dessus de la ligne de base entre les graduations, comme sur la Figure 24, page 109,

- pour les pics de vallée à vallée (VV), l'aire au-dessus de la ligne de base est segmentée au niveau des graduations selon des lignes verticales, comme sur la Figure 25, page 110,

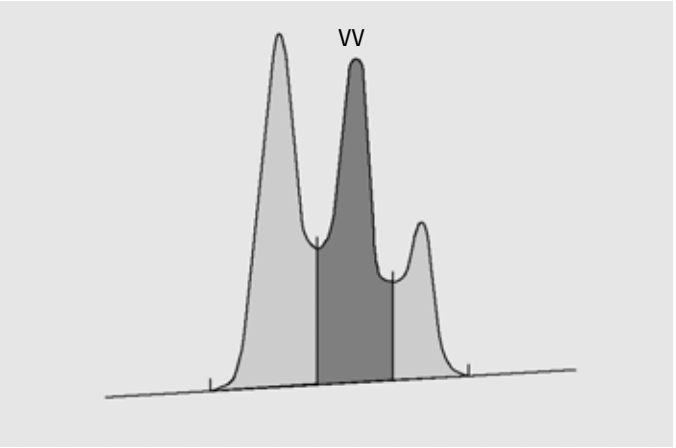


Figure 25 Mesure d'aire pour des pics de vallée à vallée

- pour les pics tangentiels (T), l'aire est au-dessus de la ligne de base redéfinie,
- pour les pics de solvant (S), l'aire est au-dessus du prolongement horizontal du dernier point de ligne de base détecté et sous la ligne de base redéfinie attribuée aux pics tangentiels (T). Un pic de solvant peut s'élèver trop lentement pour être détecté, ou un groupe de pics plus loin dans l'analyse peut sembler devoir être traité comme un pic de solvant avec un ensemble de pics dépendants. Il s'agit généralement d'un groupe de pics mal résolus dont le premier est beaucoup plus grand que les autres. Le simple traitement par projection verticale amplifierait ces derniers pics, parce qu'ils se trouvent en réalité sur la traîne du premier. En forçant la reconnaissance du premier pic en tant que solvant, le reste du groupe est éliminé de la traîne,
- les pics négatifs au-dessous de la ligne de base ont une aire positive, comme décrit sur Figure 26, page 111.

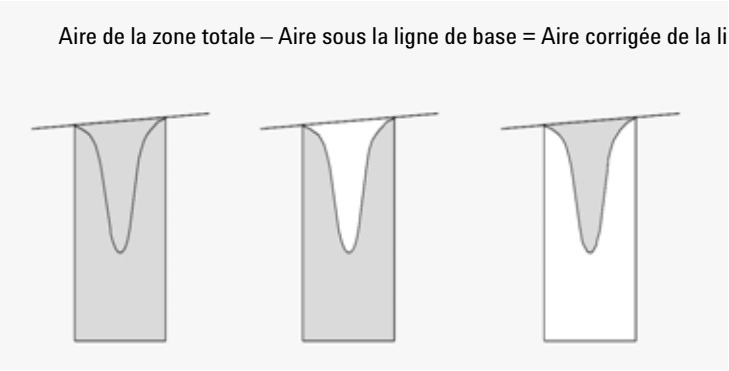


Figure 26 Mesure d'aire pour des pics négatifs

Unités et facteurs de conversion

Les données apparaissent sous la forme d'un ensemble de points de données, qui peuvent être des données échantillonnées ou intégrées. Dans le cas des données intégrées, chaque point de données correspond à une aire, exprimée sous la forme *Hauteur x Temps*. Pour les données échantillonnées, chaque point de données correspond à une hauteur.

Par conséquent, pour les données intégrées, la hauteur est une entité calculée, obtenue par division de l'aire par le temps écoulé depuis le point de données précédent. Pour les données échantillonnées, l'aire est calculée par multiplication des données par le temps écoulé depuis le point de données précédent.

Le calcul d'intégration utilise les deux types d'entités. Les unités utilisées par l'intégrateur sont : *coups* × *millisecondes* pour l'aire et *coups* pour la hauteur. Ceci permet d'assurer une base commune pour les troncatures d'entier éventuellement nécessaires. Les mesures de temps, d'aire et de hauteur sont présentées en unités physiques réelles, quelles que soient leurs méthodes de mesure, de calcul et d'enregistrement dans le logiciel.

Événements d'intégration

L'intégrateur propose un certain nombre d'événements initiaux et programmés. De nombreux événements sont des paires actif/inactif ou début/fin.

Evénements initiaux

Largeur de pic initiale La **Initial peak width** définit la largeur de pic interne de l'intégrateur au début de l'analyse. La valeur de largeur de pic initiale est utilisée pour mettre à l'échelle le compteur qui détecte la pente montante, la pente descendante et la traîne. Si nécessaire, l'intégrateur met à jour la largeur de pic en cours d'analyse pour optimiser l'intégration. Il est possible de spécifier la largeur de pic en unités de temps, qui correspond à la largeur à mi-hauteur du premier pic attendu (en excluant le pic de solvant).

Sensibilité de pente La **Slope sensitivity** est le réglage de sensibilité de détection de pic. Il est modifiable sur une échelle linéaire.

Hauteur de rejet La **Height reject** détermine le rejet de pic en fonction de leur hauteur finale. Les pics de hauteur inférieure à la hauteur minimale sont ignorés.

Aire de rejet L'**Area reject** définit le rejet des pics en fonction de leur aire finale. Tous les pics dont les aires sont inférieures à l'aire minimale sont ignorés.

Détection d'épaulement Lorsque la **shoulder detection** est activée, l'intégrateur détecte les épaulements en utilisant la courbure du pic indiquée par la dérivée seconde. Si la courbure atteint zéro, l'intégrateur identifie ce point d'inflexion comme étant un épaulement possible. Si l'intégrateur identifie un autre point d'inflexion avant le sommet du pic, un épaulement a été détecté.

Largeur de pic

Le paramètre de largeur de pic contrôle la sélectivité de l'intégrateur pour distinguer les pics du bruit de la ligne de base. Pour obtenir de bonnes performances, la largeur de pic doit être proche de la largeur à mi-hauteur des pics chromatographiques/électrophétiques réels. Si nécessaire, l'intégrateur met à jour la largeur de pic en cours d'analyse pour optimiser l'intégration.

Choix de la largeur de pic

La valeur sélectionnée doit assurer un filtrage tout juste suffisant pour éviter que le bruit soit interprété comme des pics, sans déformer les informations du signal.

- Pour choisir une largeur de pic initiale appropriée pour un pic recherché particulier, utilisez la largeur (durée) du pic en tant que base de référence.
- Pour choisir une largeur de pic initiale appropriée lorsque plusieurs pics sont analysés, la largeur de pic initiale doit être définie à une valeur égale ou inférieure à la largeur du pic le plus étroit, pour obtenir une sélectivité de pic optimale.

Si la largeur de pic initiale sélectionnée est trop faible, le bruit risque d'être interprété comme des pics. Si des pics larges et étroits sont présents, il est possible d'utiliser des événements programmés pour ajuster la largeur de pic pour certains pics. Dans certains cas, les pics peuvent s'élargir de façon importante en cours d'analyse, par exemple pour des analyses GC isothermes ou LC isocratiques. Pour compenser ce phénomène, l'intégrateur met à jour automatiquement la largeur de pic au fur et à mesure que les pics s'élargissent en cours d'analyse, sauf si celle-ci est désactivée ou définie avec un événement programmé.

La mise à jour de largeur de pic est pondérée de la manière suivante :

0,75 x (largeur de pic existante) + 0,25 x (largeur du pic actuel)

Si un événement d'intégration programmé désactive ou définit la largeur du pic à une valeur particulière, l'ajustement automatique de largeur de pic est désactivé.

Hauteur de rejet et largeur de pic

La **peak width** et la **height reject** jouent tous deux un rôle important dans le processus d'intégration. La modification de leurs valeurs peut conduire à des résultats différents.

- Augmentez la hauteur de rejet et la largeur de pic lorsque des composants relativement dominants doivent être détectés et quantifiés dans un environnement fortement bruité. Une largeur de pic plus élevée améliore le filtrage du bruit et une hauteur de rejet plus élevée permet d'ignorer le bruit aléatoire.

- Diminuez la hauteur de rejet et la largeur de pic pour détecter et quantifier des composants traces, dont les hauteurs sont proches de celles du bruit lui-même. En diminuant la largeur de pic, vous diminuez le filtrage des signaux, tandis qu'en diminuant la hauteur de rejet, vous assurez que les petits pics ne seront pas rejetés en raison de leur hauteur insuffisante.
- Si une analyse contient des pics de différentes largeurs, définissez la largeur de pic en fonction des pics les plus étroits et diminuez la hauteur de rejet afin d'éviter que les pics les plus larges soient ignorés en raison de leur hauteur réduite.

Optimisation de l'intégration

Il est souvent utile de modifier les valeurs de sensibilité de pente, largeur de pic, hauteur de rejet et aire de rejet pour personnaliser l'intégration.

Figure 27, page 114 illustre comment ces paramètres affectent l'intégration de cinq pics dans un signal.

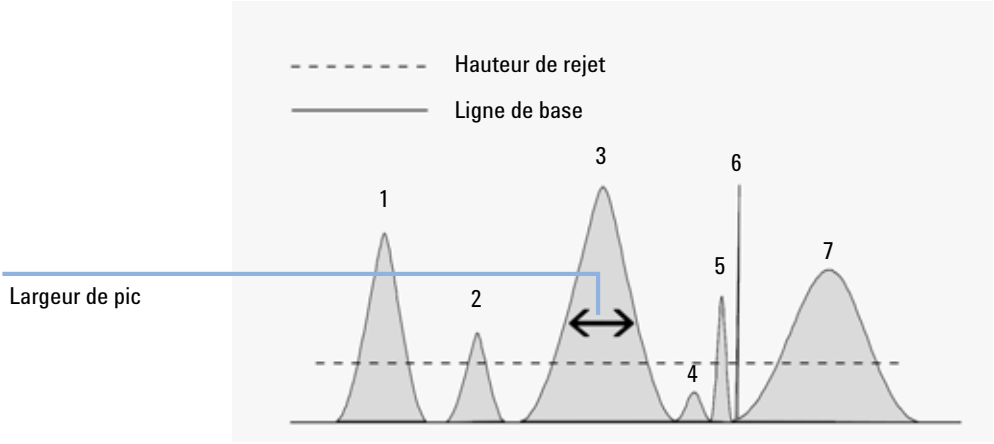


Figure 27 Utilisation d'événements initiaux

Un pic n'est intégré que si les quatre critères sur les paramètres d'intégration sont satisfaits. En utilisant la largeur de pic pour le pic 3, l'aire de rejet et la sensibilité de pente présentés sur Figure 27, page 114, seuls les pics 1, 3, 5 et 7 sont intégrés.

Pic 1 est intégré parce que les quatre événements d'intégration sont conformes.

Pic 2 est rejeté parce que l'aire est inférieure à la valeur de rejet d'aire définie.

Pic 3 est intégré parce que les quatre événements d'intégration sont conformes.

Pic 4 n'est pas intégré parce que la hauteur du pic est inférieure à la hauteur de rejet.

Pic 5 est rejeté parce que l'aire est inférieure à la valeur de rejet d'aire définie.

Pic 6 n'est pas intégré ; le filtrage et le groupage rendent ce pic invisible.

Pic 7 est intégré.

Tableau 12 Valeurs de rejet de hauteur et d'aire

Paramètre d'intégration	Pic 1	Pic 2	Pic 3	Pic 4	Pic 5	Pic 7
Hauteur de rejet	Au-dessus	Au-dessus	Au-dessus	Au-dessous	Au-dessus	Au-dessus
Aire de rejet	Au-dessus	Au-dessous	Au-dessus	Au-dessous	Au-dessous	Au-dessus
Pic intégré	Oui	Non	Oui	Non	Non	Oui

Événements programmés

Vous pouvez utiliser des événements chronoprogrammés pour personnaliser la construction de la ligne de base du signal lorsque la construction par défaut ne convient pas. Ces événements peuvent être utiles pour l'addition des aires de pics et pour corriger des aberrations de la ligne de base à court et à long terme. Pour plus d'informations sur les événements d'intégration, reportez-vous à la section

Événements d'intégration

. (« Evénements initiaux », page 112)

Intégration automatique

La fonction **Autointegrate** est un point de départ pour la définition d'événements initiaux. Elle est particulièrement utile lors de la mise en oeuvre d'une méthode nouvelle. Il est possible de commencer avec une table d'événements

d'intégration par défaut ne contenant aucun événement programmé, puis d'optimiser les paramètres proposés par la fonction d'intégration automatique pour utilisation générale.

Principes de fonctionnement

La fonction **Autointegrate** lit les données du chromatogramme et calcule les valeurs optimales des paramètres d'intégration initiaux pour chaque signal du chromatogramme.

L'algorithme examine 1 % au début et à la fin du chromatogramme pour déterminer le bruit et la pente de cette partie. Le bruit est calculé comme étant 3 fois l'écart type de la régression linéaire divisé par la racine carré du nombre en pourcentage de points utilisés dans la régression. Ces valeurs sont utilisées pour définir des valeurs appropriées de hauteur de rejet et de sensibilité de pente pour l'intégration. L'algorithme attribue ensuite une valeur temporaire à la largeur de pic, en fonction de la durée du chromatogramme, le plus souvent 0,5 % en LC et 0,3 % à 0,2 % en GC. La valeur initiale d'aire de rejet est définie à zéro et un essai d'intégration est effectuée. L'essai est répété plusieurs fois si nécessaire, en modifiant les paramètres à chaque fois jusqu'à ce qu'au moins 5 pics soient détectés ou qu'une intégration soit effectuée avec une hauteur de rejet initiale de 0. L'essai d'intégration se termine si les conditions ci-dessous ne sont pas atteintes après 10 essais.

Les résultats de l'intégration sont examinés et la largeur de pic ajustée en fonction des largeurs des pics détectés, ce qui oriente le calcul vers les pics initiaux. La symétrie des pics détectés est utilisée pour n'inclure que les pics dont la symétrie est comprise entre 0,8 et 1,3 pour le calcul de largeur de pic. S'il n'est pas possible de détecter suffisamment de pics symétriques, cette limite est étendue à *minSymmetry/1,5* et *maxSymmetry*1,5*. La ligne de base entre les pics est ensuite examinée pour optimiser les valeurs précédentes de hauteur de rejet et de sensibilité de pente. L'aire de rejet est définie à 90% de l'aire minimale du pic le plus symétrique détecté pendant l'essai d'intégration.

Le chromatogramme est à nouveau intégré avec ces valeurs finales des paramètres d'intégration et les résultats de l'intégration sont enregistrés.

Paramètres d'intégration automatique

Les paramètres ci-dessous sont définis par la fonction d'intégration automatique :

- Sensibilité de pente initiale

- Hauteur initiale
- Largeur de pic initiale
- Aire de rejet initiale

Intégration manuelle

Ce type d'intégration permet d'intégrer des pics ou groupes de pics sélectionnés. Sauf pour la valeur initiale d'aire de rejet, les événements d'intégration du logiciel sont ignorés dans la plage indiquée d'intégration manuelle. Si un ou plusieurs des pics résultant de l'intégration manuelle sont au-dessous du seuil de rejet d'aire, ceux-ci sont ignorés. Les événements d'intégration manuelle utilisent des valeurs de temps absolues. Ils ne sont pas ajustés pour tenir compte de la dérive du signal.

L'intégration manuelle permet de définir les points de début et de fin du pic, puis d'inclure les aires recalculées dans les modules de quantification et de génération de rapport. Les pics intégrés manuellement sont étiquetés dans les rapports par le code de séparation de pics M.

L'intégration manuelle comporte les fonctions suivantes :

Tracé de ligne de base Spécifie à quel moment les lignes de base doivent être tracées pour un pic ou un ensemble de pics. Il est également possible de spécifier si les pics dans la plage donnée doivent être automatiquement séparés à tous les points de vallée.

Pics négatifs Spécifie si toutes les aires au-dessous de la ligne de base doivent être traitées comme des pics négatifs. Il est également possible de spécifier si les pics dans la plage donnée doivent être automatiquement séparés à tous les points de vallée.

Intégration tangentielle Calcule les aires de pics soustraites d'un pic principal par intégration tangentielle. L'aire du pic soumis à l'intégration tangentielle est soustraite de l'aire du pic principal.

Pic dédoublé Spécifie un point où un pic doit être divisé par une ligne verticale.

Supprimer le(s) pic(s) Supprime un ou plusieurs pics des résultats d'intégration.

Codes de séparation de pic pour les pics intégrés manuellement

Les pics intégrés manuellement sont étiquetés dans les rapports d'intégration par le code de pic MM.

S'il existe un pic avant le pic intégré manuellement, et la fin de ce pic est modifiée par l'intégration manuelle, elle reçoit le code F (forcé).

Un pic de solvant affecté par une intégration manuelle, par exemple une intégration tangentielle, est étiqueté R (solvant recalculé).

Enregistrement des événements d'intégration manuelle

Les événements d'intégration manuels, par exemple, une ligne de base dessinée manuellement, sont encore plus spécifiques d'un fichier de données que des événements d'intégration temporisés. Dans le cas de chromatogrammes complexes, il est particulièrement souhaitable de pouvoir utiliser ces événements pour le retraitement.

Par conséquent, dans les versions de ChemStation B.04.01 et supérieures, les événements d'intégration manuels peuvent être enregistrés directement dans le fichier de données plutôt que dans la méthode. Chaque fois que le fichier de données est examiné ou retraité, les événements manuels dans le fichier de données sont automatiquement appliqués. Une analyse contenant des événements d'intégration manuels est marquée dans la **Table de Navigation** dans la colonne correspondante.

Outre les outils pour dessiner une ligne de base et effacer un pic manuellement, trois outils supplémentaires sont disponibles dans l'interface utilisateur afin de

- sauvegarder les événements manuels des chromatogrammes actuellement indiqués dans le fichier de données,
- Effacer tous les événements des chromatogrammes actuellement indiqués,
- Annuler les derniers événements d'intégration manuels (disponible jusqu'à ce que l'événement soit sauvegardé).

Lorsque vous continuez jusqu'au prochain fichier de données pendant la révision dans la **Table de Navigation**, ChemStation vérifiera les événements d'intégration manuels non sauvegardés et demandera à l'utilisateur s'il souhaite sauvegarder ces événements.

Les événements manuels enregistrés dans le fichier de données pendant la révision dans la **Table de Navigation** n'interfèrent pas avec les événements d'intégration manuels enregistrés pendant la révision dans le mode **Batch**. Ces deux modes de révision sont totalement séparés par rapport aux événements manuels d'un fichier de données.

Dans les révisions ChemStation antérieures à la version B.04.01, les événements d'intégration manuels ne pouvaient être enregistrés que dans la méthode. Dans la version B.04.01, cet organigramme des tâches peut toujours être utilisé. Le menu **Intégration** dans la vue **Analyse des données** fournit les points suivants qui permettent de traiter les événements d'intégration manuels par le biais de la méthode:

- **Update Manual Events of Method (Mise à jour d'événements manuels de méthode)**: Sauvegarder les nouveaux événements manuels dans la méthode.
- **Apply Manual Events from Method (Application d'événements manuels de méthode)**: Appliquer les événements manuels actuellement sauvegardés dans la méthode au fichier de données actuellement chargé.
- **Remove Manual Events from Method (Suppression d'événements manuels de méthode)** : Effacer les événements manuels de la méthode.

Afin de convertir les événements manuels enregistrés dans une méthode pour stockage dans le fichier de données, il convient d'appliquer les événements de la méthode et d'enregistrer les résultats dans le fichier de données. Si vous le souhaitez, vous pouvez éliminer les événements de la méthode.

Conversion d'événements d'intégration manuelle enregistrés dans une méthode

Dans les versions de ChemStation antérieures à B.04.01, les événements d'intégration manuelle étaient enregistrés dans la méthode et non dans le fichier de données individuel. Afin d'enregistrer les événements manuels dans un fichier de données, il était préférable d'utiliser la méthode individuelle DA.M de chaque fichier de données spécifique.

Le menu **Intégration** dans la vue Data Analysis (Analyse des données) comporte les options suivantes pour convertir des événements d'intégration manuelle dans la méthode en événements enregistrées dans le fichier de données, ou continuer de travailler avec des événements manuels enregistrés dans la méthode :

- **Update Manual Events of Method (Mise à jour d'événements manuels de méthode)** : pour enregistrer de nouveaux événements manuels dans la méthode.
- **Apply Manual Events from Method (Application d'événements manuels de méthode)** : pour appliquer les événements actuellement enregistrés dans la méthode au fichier de données actuellement chargé.
- **Remove Manual Events from Method (Suppression d'événements manuels de méthode)** : pour supprimer les événements manuels de la méthode.

5 Quantification

Définition 122
Calculs de la quantification 123
Facteurs de correction 124
- Facteur de réponse absolu 124
- Multiplicateur 124
- Facteur de dilution 124
- Quantité d'échantillon 125

Procédures de calcul non étalonné 126
- %aire et %hauteur 126

Procédures de calcul étalonnées 127
Calcul d'étalonnage externe 128
Calcul normalisé 131
Calcul ISTD 132
- Analyse 1 : Étalonnage 133
- Analyse 2 : Echantillon inconnu 134
- Calcul ISTD des pics étalonnés 134
- Calcul d'étalonnage interne de pics non étalonnés 135

Ce chapitre décrit la procédure de quantification de ChemStation. Il détaille les calculs d'aire (%) et de hauteur (%), le calcul d'étalonnage externe (ESTD), d'étalonnage interne (ISTD), de pourcentage normalisé et la quantification des pics non identifiés.

Définition

Une fois que les pics ont été intégrés et identifiés, l'étape suivante de l'analyse est la quantification. La quantification utilise l'aire ou la hauteur de pic pour déterminer la concentration d'un composé dans un échantillon.

L'analyse quantitative comporte de nombreuses étapes, brièvement résumées ci-après :

- Connaître le composé analysé.
- Établir une méthode pour analyser les échantillons contenant ce composé.
- Analyser un ou plusieurs échantillons contenant une ou plusieurs concentrations connues du composé, pour déterminer la réponse correspondant à chaque concentration.

  Il est également possible d'analyser un certain nombre de ces échantillons avec différentes concentrations des composés en question si la réponse de votre détecteur est non linéaire. Ce processus est appelé *étalonnage multi-niveau*.
- Analyser l'échantillon contenant une concentration inconnue du composé pour déterminer la réponse correspondant à cette concentration.
- Déterminer la concentration du composé recherché par comparaison de sa réponse à celle de la concentration connue.

Pour obtenir une comparaison valide de la réponse de l'échantillon inconnu à celle de l'échantillon connu, les données doivent être obtenues et traitées dans des conditions identiques.

Calculs de la quantification

ChemStation met à votre disposition les procédures de calcul suivantes pour déterminer la concentration de chaque composant présent dans un mélange :

- Pourcentage
- Normalisation
- Etalon externe (ESTD)
- %ESTD
- Etalon interne (ISTD)
- %ISTD

Les calculs utilisés pour déterminer la concentration d'un composé dans un échantillon inconnu dépendent du type de quantification. Chaque procédure de calcul utilise l'aire du pic ou sa hauteur pour le calcul et génère un type de rapport différent.

Facteurs de correction

Les calculs de quantification utilisent quatre facteurs de correction : le *facteur de réponse absolu*, le *multiplicateur*, le *facteur de dilution* et la *quantité d'échantillon*. Ces facteurs sont utilisés dans les procédures d'étalonnage pour compenser les variations de réponse du détecteur aux différents composants des échantillons, concentrations, dilutions d'échantillons, quantités d'échantillons et pour la conversion d'unités.

Facteur de réponse absolu

Le facteur de réponse absolu d'un composant d'échantillon représente la quantité du composant divisée par l'aire ou la hauteur mesurée du pic du composant dans l'analyse d'un mélange étalon. Le facteur de réponse absolu, qui est utilisé par chaque procédure de calcul étalonnée, corrige les différences de réponse que le détecteur présente vis-à-vis des différents composants d'échantillon.

Multiplicateur

Le multiplicateur est utilisé dans chaque formule de calcul pour multiplier le résultat de chaque composant. Le multiplicateur peut être utilisé pour convertir les unités exprimant les quantités.

Facteur de dilution

Le facteur de dilution est le nombre par lequel tous les résultats calculés sont multipliés avant l'impression du rapport. Le facteur de dilution permet de modifier l'échelle des résultats ou de corriger les modifications apportées à la composition de l'échantillon pendant l'analyse préalable. Vous pouvez également recourir au facteur de dilution à n'importe quelle autre fin nécessitant l'utilisation d'un facteur constant.

Quantité d'échantillon

Si les calculs de %ESTD ou %ISTD sont sélectionnés, les rapports ESTD et ISTD donnent des valeurs relatives, et non absolues : la quantité de chaque composant est exprimée en pourcentage de la quantité de l'échantillon. La quantité d'échantillon est utilisée dans les rapports %ESTD et %ISTD pour convertir la quantité absolue de chaque composant analysé en une quantité relative, en la divisant par la valeur spécifiée.

Procédures de calcul non étalonné

Les procédures de calcul non étalonnées ne nécessitent pas de table d'étalonnage.

%aire et %hauteur

La procédure de calcul de pourcentage d'aire (Area%) indique l'aire de chaque pic dans l'analyse sous forme de pourcentage de la somme des aires de tous les pics de l'analyse. Le pourcentage de l'aire (Area%) ne nécessite pas d'étalonnage préalable et ne dépend pas de la quantité d'échantillon injecté dans les limites de linéarité du détecteur. Aucun facteur de réponse n'est utilisé. Si tous les composants répondent de manière égale dans le détecteur et sont élués, le calcul du pourcentage d'aire (Area%) offre une approximation acceptable des quantités relatives des composants.

Le pourcentage de l'aire (Area%) est fréquemment utilisé pour des résultats qualitatifs, et pour produire des informations permettant de créer la table d'étalonnage requise pour d'autres procédures d'étalonnage.

La procédure de calcul du pourcentage de hauteur (height%) indique la hauteur de chaque pic dans l'analyse sous forme de pourcentage de la hauteur totale de tous les pics de l'analyse.

Procédures de calcul étalonnées

Les procédures de calcul d'étalon externe (ESTD), de normalisation et d'étalon interne (ISTD) requièrent des facteurs de réponse et utilisent pour cela une table d'étalonnage. La table d'étalonnage propose la conversion des réponses dans les unités choisies en fonction de la procédure sélectionnée.

Calcul d'étalonnage externe

La procédure d'étalonnage externe (ESTD) est la procédure de quantification de base dans laquelle l'échantillon étalon et l'échantillon inconnu sont analysés dans les mêmes conditions. Les résultats de l'échantillon inconnu sont alors comparés à ceux de l'étalon pour calculer les quantités dans l'échantillon inconnu.

Contrairement à la procédure d'étalonnage interne, la procédure d'étalonnage externe utilise des facteurs de réponse absolus. Les facteurs de réponse sont obtenus à partir d'un étalonnage, puis enregistrés. Dans les analyses d'échantillons suivantes, le calcul quantitatif applique ces facteurs de réponse aux quantités d'échantillons mesurées. Il est important que pour ce type de calcul, le volume d'injection d'échantillon soit reproductible d'une analyse à l'autre, car il n'y a pas d'étalon dans l'échantillon pour corriger les variations du volume injecté ou de préparation d'échantillon.

Lors de la génération d'un rapport d'étalonnage externe, le calcul de la quantité d'un composé spécifique dans un échantillon inconnu est effectué en deux étapes :

1. Une équation de la courbe passant par les points d'étalonnage de ce composé est calculée à l'aide du type de régression défini dans la boîte de dialogue Calibration Settings (Paramètres d'étalonnage) ou Calibration Curve (Courbe d'étalonnage).
2. La quantité du composé dans l'échantillon inconnu est calculée à l'aide de l'équation décrite ci-après. Cette quantité peut apparaître dans le rapport ou être utilisée dans d'autres calculs requis par les valeurs Multiplier (Multiplicateur), Dilution Factor (Facteur de dilution) ou Sample Amount (Quantité d'échantillon).

Si le rapport d'étalonnage externe est sélectionné, l'équation permettant de calculer la quantité absolue d'un composant x est :

$$\text{Absolute Amt of x} = Response_x \cdot RF_x \cdot M \cdot D$$

où :

Responsex représente la réponse du pic x ;

RFx représente le facteur de réponse du composant x, calculé comme suit :

$$RF_x = \frac{Amount_x}{Response_x}$$

M représente le multiplicateur.

D représente le facteur de dilution.

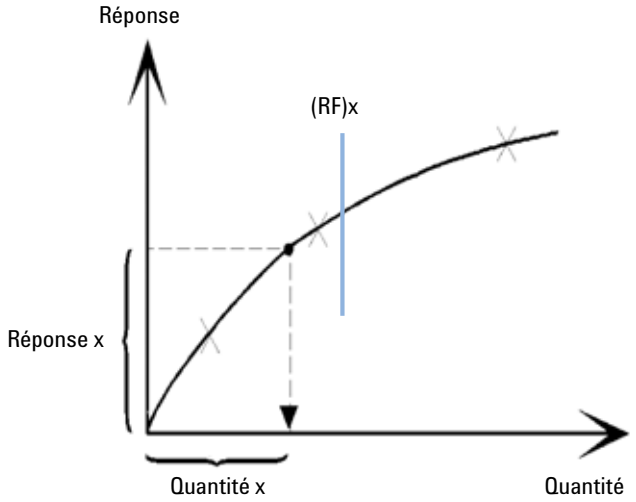


Figure 28 Facteur de réponse

Le multiplicateur et le facteur de dilution sont lus dans les **Calibration Settings** ou les **Sample Information**.

Si le rapport ESTD% est sélectionné et que la quantité d'échantillon est différente de zéro, la quantité relative (%) d'un composant x est calculée comme suit :

$$\text{Relative Amt of x} = \frac{\{\text{Absolute Amt of x}\} \cdot 100}{\text{Sample Amount}}$$

où :

La *Quantité absolue de x* est calculée comme indiqué ci-dessus dans le calcul d'étalonnage externe ;

La *quantité d'échantillon* est obtenue à partir de la zone Sample Information (Informations d'échantillon) ou de la boîte de dialogue Calibration Settings (Paramètres d'étalonnage) pour des analyses simples. Si la quantité d'échantillon est égale à zéro, l'étalonnage externe est calculé.

Calcul normalisé

Dans la méthode de normalisation, les facteurs de réponse sont appliqués aux aires (ou hauteurs) des pics pour compenser les différences de sensibilité du détecteur pour les différents composants de l'échantillon.

Le calcul du rapport Norm% est identique au rapport ESTD, à la différence près que le calcul des quantités relatives de composé comprend une étape supplémenaire pour calculer des quantités relatives et non absolues.

Le rapport Norm% présente les mêmes inconvénients que les rapports Area% et Height%. Toute modification affectant l'aire de pic totale a une incidence sur le calcul de la concentration de chaque pic. Le rapport de normalisation ne doit donc être utilisé que si tous les éléments recherchés sont élués et intégrés. L'exclusion de pics sélectionnés d'un rapport de normalisation modifie les résultats finaux pour l'échantillon.

L'équation utilisée pour le calcul du pourcentage normalisé d'un composant x est la suivante :

$$\text{Norm\% of x} = \frac{\text{Response}_x \cdot \text{RF}_x \cdot 100 \cdot M \cdot D}{\sum(\text{Response} \cdot RF)}$$

où :

$Response_x$	représente l'aire (ou la hauteur) du pic x ;
RF_x	représente le facteur de réponse,
Σ *(Response · RF)*	représente le total de tous les produits *Response · RF* pour tous les pics (y compris le pic x) ;
M	représente le multiplicateur ;
D	représente le facteur de dilution.

Le multiplicateur et le facteur de dilution sont lus dans la boîte de dialogue **Calibration Settings** ou **Sample Information**.

Calcul ISTD

La procédure ISTD élimine les inconvénients de la méthode ESTD en ajoutant une quantité connue d'un composant servant de facteur de normalisation. Ce composant, l'*étalon interne*, est ajouté à la fois aux étalons et aux échantillons inconnus.

Le logiciel se sert des facteurs de réponse appropriés obtenus d'un étalonnage précédent enregistré dans la méthode. A l'aide de la concentration de l'étalon interne et des aires ou hauteurs des pics de l'analyse, le logiciel calcule la concentration des composants.

Le composé utilisé comme étalon interne doit être similaire tant du point de vue chimique qu'au niveau du temps de rétention/migration au composé étalonné, mais doit s'en distinguer chromatographiquement.

Tableau 13 Procédure ISTD

Avantages	Inconvénients
La variation de quantité injectée n'est pas primordiale.	L'étalon interne doit être ajouté à chaque échantillon.
La dérive d'instrument est compensée par l'étalon interne.	
Les effets dus à la préparation de l'échantillon sont réduits si le comportement chimique de l'ISTD et celui de l'inconnu sont similaires.	

Si vous utilisez la procédure ISTD pour des étalonnages avec une caractéristique non linéaire, veillez à ce que les éventuelles erreurs issues du principe de calcul n'entraînent pas d'erreur systématique. Dans les étalonnages multiniveaux, la quantité du composé ISTD doit être constante, c'est-à-dire identique pour chaque niveau si la courbe d'étalonnage du composé n'est pas linéaire.

Dans l'analyse de l'étalon interne, la quantité du composant étudié est liée à la quantité de l'étalon interne par le rapport des réponses des deux pics.

Lors d'un étalonnage ISTD à deux analyses, le calcul du rapport de quantité corrigé d'un composé donné dans un échantillon inconnu se déroule comme suit :

Analyse 1 : Étalonnage

1 Les points d'étalonnage sont calculés à partir d'un rapport de quantité et d'un rapport de réponse pour chaque niveau d'un pic particulier dans la table d'étalonnage.

Le rapport de quantité est la quantité du composé divisée par la quantité de l'étalon interne à ce niveau.

Le rapport de réponse est l'aire du composé divisée par l'aire ou la hauteur de l'étalon interne à ce niveau.

2 Une équation de la courbe passant par les points d'étalonnage est calculée à l'aide du type de régression défini dans la boîte de dialogue Calibration Settings (Paramètres d'étalonnage) ou Calibration Curve (Courbe d'étalonnage).

$$RF_x = \frac{\text{Amount Ratio}}{\text{Response Ratio}}$$

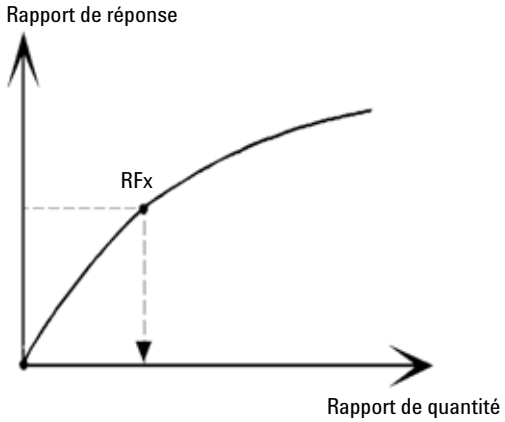


Figure 29 Rapport de quantité

Analyse 2 : Echantillon inconnu

1. La réponse du composé dans l'échantillon inconnu est divisée par la réponse de l'étalon interne dans l'échantillon inconnu pour donner un rapport de réponse pour ce dernier.
2. Un rapport de quantité pour l'échantillon inconnu est calculé à l'aide de l'équation de la courbe de régression déterminée à l'étape 2 ci-dessus et de la quantité réelle d'ISTD dans l'échantillon.

Calcul ISTD des pics étalonnés

Les équations permettant de calculer la quantité réelle d'un composant étalonné x pour un étalonnage à un seul niveau sont :

$$\text{Response Ratio} = \frac{\text{Response}_x}{\text{Response}_{\text{ISTD}}}$$

$$\text{Actual Amount of x} = \text{RF}_x \cdot \{\text{Response Ratio}\}_x \cdot \text{Actual Amount of ISTD} \cdot M \cdot D$$

où :

RF_x représente le facteur de réponse pour le composé x ;

La quantité réelle *(Actual Amt)* d'ISTD représente la valeur entrée dans la boîte de dialogue Calibration Settings (Paramètres d'étalonnage) ou Sample Information (Informations d'échantillon) pour l'étalon interne ajouté à l'échantillon inconnu ;

M représente le multiplicateur.

D représente le facteur de dilution.

Si le type de rapport %ISTD est sélectionné, l'équation suivante permet de calculer la quantité relative (%) de composant x :

$$\text{Relative Amt of x} = \frac{\{\text{Absolute Amt of x}\} \cdot 100}{\text{Sample Amount}}$$

Calcul d'étalonnage interne de pics non étalonnés

Il existe deux méthodes pour définir le facteur de réponse servant à calculer la quantité pour les pics non identifiés.

1 Utiliser le facteur de réponse fixe défini dans la zone With Rsp Factor (Avec facteur de réponse) de la boîte de dialogue Calibration Settings (Paramètres d'étalonnage). Pour corriger le facteur de réponse fixe, vous pouvez définir une correction d'étalonnage interne (ISTD).

$$\text{Actual Amount of x} = \text{RF}_x \cdot \{\text{Response Ratio}\}_x \cdot \text{Actual Amount of ISTD} \cdot M \cdot D$$

$$\text{Response Ratio} = \frac{\text{Response}_x}{\text{Response}_{\text{ISTD}}}$$

RF_x représente le facteur de réponse défini dans la boîte de dialogue **Calibration Settings**.

Ces formules démontrent que les variations de la réponse ISTD permettent de corriger la quantification du composant inconnu.

2 Utiliser un pic étalonné. Cette procédure permet d'utiliser le même facteur de réponse pour la quantification de tous les pics. Le facteur de réponse du composé sélectionné comme celui des pics non étalonnés sont corrigés lors de chaque réétalonnage. Si le facteur de réponse du pic étalonné évolue, celui des pics non identifiés varie proportionnellement. Si une table d'étalonnage est déjà définie, il est possible de sélectionner un composé dans la zone de liste déroulante Using Compound (Utiliser le composé) de la boîte de dialogue Calibration Settings (Paramètres d'étalonnage).

Les équations permettant de calculer la quantité réelle d'un pic non étalonné x sont indiquées ci-dessus.

6
Identification des pics

En quoi consiste l'identification des pics ? 138

Règles de correspondance des pics 139

Types d'identification des pics 140

- Temps de rétention/migration absolu 140
- Temps de rétention/migration corrigé 140
- Qualificateurs de pics 140
- Limites de quantité 141

Temps de rétention/migration absolu 142

Temps de rétention/migration corrigés 144

- Pics de référence simples 144
- Pics de référence multiples 145

Qualificateurs de pic 146

- Corrélation de signal 147
- Vérification de qualificateur 147
- Calcul de rapport de qualificateur 147

La procédure d'identification 149

- Recherche des pics de référence 149
- Recherche des pics ISTD 149
- Recherche des pics étalonnés restants 150
- Classification des pics non identifiés 150

Ce chapitre décrit les concepts de l'identification des pics.

En quoi consiste l'identification des pics ?

L'identification des pics consiste à identifier les composants d'un échantillon inconnu en se basant sur leurs caractéristiques chromatographiques/d'électrophérogramme, déterminées par l'analyse d'un étalon bien défini.

L'identification de ces composants est une étape nécessaire dans la quantification si la méthode d'analyse a recours à la quantification. Les caractéristiques du signal de chaque composant concerné sont stockées dans la table d'étalonnage de la méthode.

L'objectif de la procédure d'identification des pics vise à comparer chaque pic du signal aux pics stockés dans la table d'étalonnage.

La table d'étalonnage contient les temps de rétention/migration prévus pour les composants concernés. Un pic correspondant au temps de rétention/migration d'un pic dans la table d'étalonnage reçoit les attributs de ce composant, par exemple nom et facteur de réponse. Les pics qui ne correspondent pas à ceux de la table d'étalonnage sont classés dans la catégorie des pics inconnus. Cette procédure est contrôlée par :

- le temps de rétention/migration de la table d'étalonnage pour les pics désignés comme pics de référence,
- les fenêtres de temps de rétention/migration spécifiées pour les pics de référence,
- les temps de rétention/migration dans la table d'étalonnage pour les pics étalonnés qui ne sont pas des pics de référence,
- la fenêtre de temps de rétention/migration spécifiée pour ces pics normaux (pas de référence), et
- la présence de tout pic de qualification supplémentaire dans les rapports corrects.

Règles de correspondance des pics

Les règles suivantes concernent la procédure de correspondance des pics :

- si un pic d'échantillon se situe dans la fenêtre de correspondance d'un pic de composant provenant de la table d'étalonnage, il adopte les attributs de ce composant,
- si plusieurs pics d'échantillon se situent dans la fenêtre de correspondance, le pic le plus proche du temps de rétention/migration prévu est identifié comme ce composant,
- si un pic correspond à une référence ou à un étalon interne, le plus grand pic de la fenêtre est identifié comme ce composant,
- si des qualificateurs de pic sont également utilisés, le rapport de pic doit être associé à la fenêtre de correspondance des pics pour identifier le pic de composant,
- si le pic correspond à un pic de qualification, le pic dont les mesures sont les plus proches du pic principal du composé est identifié, et
- si un pic d'échantillon ne se situe pas dans une fenêtre de correspondance, il est répertorié dans les composants inconnus.

Types d'identification des pics

Vous pouvez utiliser différentes techniques pour établir la correspondance entre les pics d'échantillon et ceux de la table d'étalonnage du logiciel ChemStation.

Temps de rétention/migration absolu

Le temps de rétention/migration du pic d'échantillon est comparé au temps de rétention/migration attendu spécifié pour chaque composant de la table d'étalonnage.

Temps de rétention/migration corrigé

Les temps de rétention/migration attendus des pics de composant sont corrigés à partir des temps de rétention/migration réels d'un ou plusieurs pics de référence et la correspondance est faite avec ces temps de rétention/migration corrigés (relatifs). Le ou les pics de référence doivent être spécifiés dans la table d'étalonnage.

Qualificateurs de pics

Outre l'identification des pics par le temps de rétention/migration, vous pouvez utiliser des qualificateurs de pics pour obtenir un résultat plus précis. Si plusieurs pics surviennent dans une fenêtre de temps de rétention/migration, les qualificateurs devront être utilisés pour identifier le composant corrigé.

Limites de quantité

Les limites de quantité définies dans la boîte de dialogue Compound Details (Caractéristiques de composé) permettent de qualifier l'identification des pics. Si la quantité du composé identifié s'inscrit dans les limites définies, l'identification des pics est mentionnée dans le rapport.

Temps de rétention/migration absolu

La fenêtre de temps de rétention/migration est utilisée dans le processus d'identification des pics. Cette fenêtre est centrée sur le temps de rétention/migration pour un pic prévu. Tout pic d'échantillon qui se situe dans cette fenêtre est susceptible d'être exploité dans le cadre de l'identification des composants.

La Figure 30, page 142 présente une fenêtre de temps de rétention/migration pour le pic 2 située entre 1,809 et 2,631 minutes, alors que le temps de rétention/migration prévu est de 2,22 minutes. Il existe deux possibilités pour le pic 2 : l'une à 1,85 minute et l'autre à 2,33 minutes. Si le pic attendu n'est pas un pic de référence, le pic le plus proche du temps de rétention/migration attendu de 2,22 minutes est sélectionné.

Si le pic attendu correspond à une référence ou à un étalon interne, le plus grand pic de la fenêtre est sélectionné.

Dans les deux cas, la ChemStation sélectionne le pic à 2,33 minutes. Si les deux pics étaient de taille identique, le pic le plus proche du centre de la fenêtre serait sélectionné.

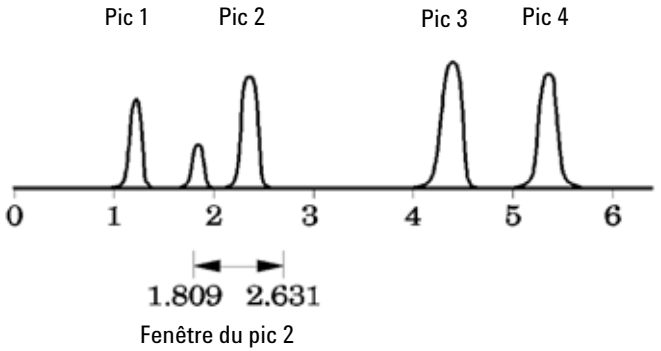


Figure 30 Fenêtres de temps de rétention/migration

La localisation des pics est effectuée à l'aide de trois types de fenêtres.

- les fenêtres de pic de référence, qui concernent uniquement les pics de référence,

- les fenêtres de pics non-référence, qui s'appliquent à tous les autres pics étalonnés, et
- les valeurs de fenêtre spécifiques pour les composants individuels qui sont définies dans la boîte de dialogue **Compound Details**.

Les valeurs par défaut de ces fenêtres sont saisies dans la boîte de dialogue Calibration Settings (Paramètres d'étalonnage). La largeur de chaque côté du temps de rétention/migration qui définit la fenêtre d'identification de pic est la somme des fenêtres absolue et en pourcentage.

Une fenêtre de 5 % signifie que le pic doit avoir un temps de rétention/migration de +/- 2,5 % par rapport au temps de rétention/migration étalonné pour ce pic. Par exemple, un pic avec un temps de rétention/migration de 2,00 lors de d'étalonnage doit apparaître entre 1,95 et 2,05 minutes dans les analyses suivantes.

Par exemple, une fenêtre absolue de 0,20 minute et une fenêtre relative de 10 % donnent une fenêtre de temps de rétention/migration située entre 1,80 et 2,20 minutes.

1,80 min = 2,00 min 0,10 min (0,20 min / 2) 0,10 min (10 % de 2,00 min).

2,20 min = 200 min + 0,10 min (0,20 min / 2) + 0,10 min (10 % de 2,00 min).

Temps de rétention/migration corrigés

Etablir la correspondance entre des pics par les temps de rétention/migration absolus est peut-être simple mais pas toujours fiable. En effet, les temps de rétention/migration individuels peuvent varier légèrement en raison d'un petit changement de conditions ou de technique. De ce fait, certains pics peuvent sortir des fenêtres de correspondance et ne seront donc pas identifiés.

Pour prendre en compte les inévitables fluctuations intervenant dans les temps de rétention/migration absolus, l'une des techniques consiste à exprimer les temps de rétention/migration des composants par rapport à un ou plusieurs pics de référence.

Chaque pic de référence est identifié dans la table d'étalonnage, sous la forme d'une entrée dans la colonne de référence. La technique de correspondance relative utilise le ou les pics de référence pour modifier l'emplacement des fenêtres de correspondance, afin de compenser les glissements dans les temps de rétention/migration des pics d'échantillon.

Si aucun pic de référence n'est défini dans la méthode ou si la ChemStation ne peut identifier au moins un pic de référence pendant l'analyse, le logiciel utilise les temps de rétention/migration absolus pour l'identification.

Pics de référence simples

Une fenêtre de temps de rétention/migration pour le pic de référence est créée aux alentours de son temps de rétention/migration. Le plus grand pic situé dans cette fenêtre est considéré comme le pic de référence. Les temps de rétention/migration attendus pour tous les autres pics de la table d'étalonnage sont corrigés en fonction du rapport du temps de rétention/migration attendu au temps de rétention/migration réel du pic de référence.

Pics de référence multiples

La correction des temps de rétention/migration avec un pic de référence simple est basée sur le postulat que l'écart du temps de rétention/migration réel par rapport aux temps de rétention/migration prévus change de manière uniforme et linéaire pendant le déroulement de l'analyse. Or, pendant une longue analyse, il est fréquent que les temps de rétention/migration changent de manière non uniforme. Dans ces conditions, l'utilisation de plusieurs pics de référence répartis tout au long de l'analyse offre de meilleurs résultats. Le signal est alors divisé en plusieurs zones. La variation de l'écart entre les temps de rétention/migration est supposée linéaire à l'intérieur de chaque zone, mais la valeur de cette variation est déterminée séparément pour chacune d'elle.

REMARQUE L'algorithme de correction du temps peut échouer si les temps de rétention de plusieurs pics de référence sont trop proches les uns des autres et s'ils ne sont pas répartis sur toute la durée de l'analyse.

Qualificateurs de pic

Un composant peut être détecté à l'aide de plusieurs signaux. Si elle s'applique à toutes les formes de chromatographie qui utilisent plusieurs détecteurs ou des détecteurs permettant de générer plusieurs signaux, la détection multisignal est généralement utilisée en chromatographie liquide avec des détecteurs à longueurs d'onde multiples ou à barrette de diodes. Ces détecteurs sont normalement réglés de sorte que la longueur d'onde la plus proche de la valeur d'absorbance (aire) la plus élevée soit utilisée pour définir le pic principal de la table d'étalonnage. Sur Figure 31, page 146 il s'agit de Lambda$_1$.

Les deux autres longueurs d'onde de détection peuvent être utilisées en tant que qualificateurs de pic. Sur cette figure, il s'agit de Lambda$_2$ et de Lambda$_3$.

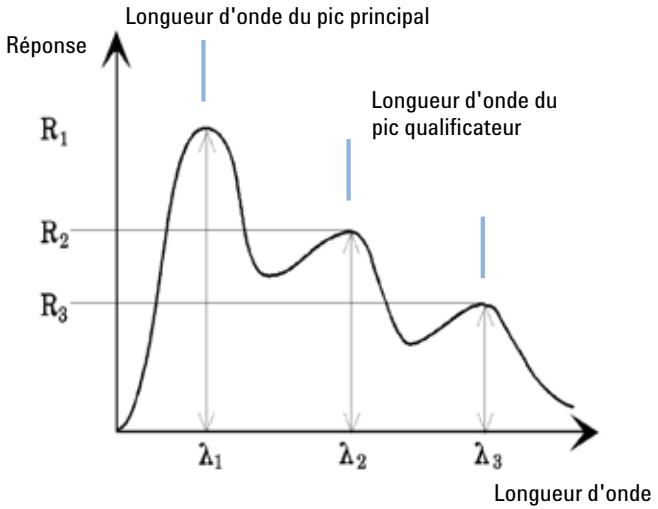


Figure 31 Qualificateurs de pic

Les pics d'un composé ont un rapport de réponse constant à différentes longueurs d'onde.

La réponse de pic qualificateur représente un certain pourcentage de la réponse du pic principal. Les limites qui déterminent la plage acceptable de la réponse attendue sont définies dans la table d'étalonnage lorsque l'option

Identification Details (Détails d'identification) est sélectionnée. Si le rapport entre le qualificateur de pic principal $Lambda_1$ et le qualificateur de pic, par exemple, $Lambda_3$, est dans les limites tolérées, l'identité du composé peut être confirmée.

Corrélation de signal

La corrélation de signal signifie que deux pics mesurés dans des signaux de détecteur différents dans une même fenêtre temporelle sont attribués au même composé. La fenêtre de corrélation de signal peut être contrôlée à l'aide du paramètre **SignalCorrWin**, dans la table **QuantParm** du registre **_DaMethod**. La fonctionnalité de corrélation de signal est désactivée lorsque la fenêtre de corrélation de signal est définie à **0.0** minute (pour plus d'informations, voir le *guide de programmation de macro*). Lorsque la corrélation de signal est désactivée, les pics élués au même temps de rétention/migration dans des signaux de détecteur différents sont traités comme des composés différents.

La fenêtre de corrélation de signal par défaut est de 0,03 minute pour les données LC, CE, CE/MS et LC/MS, et de 0,0 minute pour les données GC.

Vérification de qualificateur

Si la corrélation de signal est désactivée, la vérification de qualificateur est activée par défaut pour tous les types de fichier de données. Cette fonctionnalité peut etre désactivée en définissant la balise **UseQualifiers** de la table **Quantification Parameters** de la méthode (pour plus d'informations, consultez le guide de macroprogrammation de macro). La vérification du qualificateur est également désactivée lorsque la corrélation de signal est désactivée.

Calcul de rapport de qualificateur

Lorsque la vérification des qualificateurs est désactivée pour un composé, le rapport de la taille du qualificateur et de la taille du pic principal est comparé aux limites étalonnées. La taille désigne la hauteur ou l'aire, selon le paramètre de calcul défini dans Specify Report (Spécification de rapport).

Les pics qualificateurs peuvent être étalonnés de la même manière que les composés cibles. L'utilisateur ne doit pas spécifier le rapport de qualificateur prévu. Le rapport de qualificateur attendu est calculé automatiquement :

les deux mesures sont effectuées au temps de rétention du composé.

Le paramètre QualTolerance définit la plage acceptable du rapport de qualificateur, par exemple, ± 20 %.

La tolérance peut être définie dans la table d'étalonnage de l'interface utilisateur (Identification Details - Détails d'identification) et est exprimée en pourcentage absolu.

Pour un étalonnage multiniveau, ChemStation calcule une tolérance de qualificateur minimale sur la base des rapports de qualificateur mesurés à chaque niveau d'étalonnage. La tolérance de qualificateur minimale est calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{minimum qualifier tolerance} = \frac{\sum_{n=1}^{i} (q_i - \bar{q})}{\bar{q} \times i} \times 100$$

où q_i est le rapport de qualificateur mesuré au niveau i.

La procédure d'identification

Lorsqu'il tente d'identifier les pics, le logiciel réalise trois passes au niveau des données d'intégration.

Recherche des pics de référence

La première passe vise à identifier les pics de référence. Le logiciel examine les temps de rétention/migration des pics provenant d'une analyse, pour trouver des correspondances dans les fenêtres de rétention/migration des pics de référence dans la table d'étalonnage. Un pic de l'analyse est identifié comme pic de référence dans la table d'étalonnage si son temps de rétention/migration se situe dans la fenêtre construite pour le pic de la table d'étalonnage.

Si une fenêtre contient plusieurs pics, le pic avec l'aire la plus grande ou la hauteur la plus élevée, suivie par une correspondance positive du qualificateur de signal, si cette option est définie, est alors désigné comme pic de référence.

Une fois chaque pic de référence trouvé, la différence entre son temps de rétention/migration et celle qui figure dans la table d'étalonnage, est utilisée pour ajuster les temps de rétention/migration prévus de tous les autres pics dans la table d'étalonnage.

Recherche des pics ISTD

La seconde passe vise à identifier les pics d'étalon interne définis. S'ils n'ont pas déjà été identifiés en tant que ISTD, ils peuvent l'être en tant que pics de référence. Les pics ISTD sont identifiés par les fenêtres de temps de rétention/migration des pics et par les qualificateurs de pics. Si la fenêtre ISTD contient plusieurs pics, le plus grand pic est retenu.

Recherche des pics étalonnés restants

La troisième passe vise à identifier tous les pics restants répertoriés dans la table d'étalonnage. Les pics autres que ceux de référence dans la table d'étalonnage sont comparés aux pics d'analyse restants à l'aide de la fenêtre du temps de rétention RT.

A chaque pic étalonné correspond un temps de rétention/migration propre dans la table d'étalonnage. Il est ajusté à l'analyse en cours sur la base de l'identification préalable des pics de référence. La fenêtre de temps de rétention/migration du pic étalonné est ajustée d'après le temps de rétention/migration corrigé du pic étalonné.

Si plusieurs pics sont trouvés dans la même fenêtre, le pic avec un temps de rétention/migration le plus proche du temps de rétention/migration prévu et qui répond aussi aux spécifications de qualificateur facultatives est choisi.

Classification des pics non identifiés

S'il reste des pics non identifiés, ils sont répertoriés dans la catégorie des pics inconnus. La ChemStation essaie de regrouper les pics inconnus appartenant au même composé. Si un pic a été détecté dans plusieurs signaux, les pics avec le même temps de rétention/migration dans chaque signal sont groupés en un seul composé.

Les pics inconnus sont intégrés dans les rapports si l'option correspondante a été sélectionnée dans la boîte de dialogue Calibration Settings (Paramètres d'étalonnage).

7 Étalonnage

Terminologie 152
Table d'étalonnage 153
Courbe d'étalonnage 154
Échantillons inconnus 156
Types d'étalonnage 157
- Étalonnage simple 157
- Étalonnage multiniveau 158
- Plages d'étalonnage 160
- Ajustement de la courbe d'étalonnage 160
- Traitement de l'origine 161

Étalonnage groupé 164
Sommation des pics 165
Réétalonnage 166
- Qu'est-ce que le réétalonnage ? 166
- Pourquoi réétalonner ? 166
- Réétalonnage manuel 166
- Réétalonnage avec sommation des pics 167
- Options de réétalonnage 167
- Modes de réétalonnage 168
- Réétalonnage des pics non identifiés 168

Ce chapitre décrit les fonctionnalités d'étalonnage dans ChemStation.

Terminologie

Étalonnage L'étalonnage est le processus consistant à déterminer les facteurs de réponse utilisés pour calculer les concentrations absolues de composé en injectant des échantillons étalons préparés spécialement à cet effet. La table d'étalonnage est également utilisée pour l'identification. Voir « Identification des pics », page 137.

Composé Un composé chimique peut comporter plusieurs pics, dans un étalonnage multisignal, en général un par signal. Dans un étalonnage monosignal, un composé fait réfèrence à un seul pic.

Niveau d'étalonnage Un niveau d'étalonnage comprend les points d'étalonnage pour une concentration donnée d'un étalon. Dans un étalonnage multisignal, les points d'étalonnage peuvent être distribués sur plusieurs signaux.

Point d' étalonnage Un point d'étalonnage désigne le rapport quantité/réponse d'un pic sur la courbe d'étalonnage.

Echantillon étalon Un échantillon étalon, également appelé étalon, est un échantillon contenant une quantité connue du composé à quantifier. Dans le logiciel, l'échantillon étalon désigne une injection depuis le flacon d'échantillon étalon.

Des étalons sont disponibles auprès de fournisseurs de substances chimiques ou ils peuvent être préparés en utilisant une quantité mesurée exactement du composé pur. La quantité du composé dans l'échantillon d'étalonnage est généralement exprimée sous forme de concentration, généralement en ng/µl.

Table d'étalonnage

La table d'étalonnage spécifie les conversions des aires ou hauteurs de pics en unités de votre choix, d'après la procédure de calcul sélectionnée. La table d'étalonnage contient une liste des temps de rétention/migration provenant d'une analyse d'étalonnage. Ces temps de rétention/migration sont comparés à ceux des pics produits par l'analyse d'un échantillon. En cas de correspondance, le pic de l'échantillon est censé représenter le même composé que celui qui figure dans la table d'étalonnage. Reportez-vous à la section « Identification des pics », page 137. Au cours d'une analyse ou pendant la génération d'un rapport, les quantités entrées pour chaque pic sont utilisées pour calculer les quantités destinées au calcul sélectionné pour ce rapport. Le type et la quantité d'informations requises pour la création d'une table d'étalonnage varient en fonction du type de procédure de calcul souhaité.

Les informations suivantes sont nécessaires pour créer une table d'étalonnage :

- le temps de rétention/migration de chaque pic de composant d'un mélange étalon, et
- la quantité de chaque composant utilisée dans l'élaboration du mélange étalon, exprimée en unités homogènes.

Courbe d'étalonnage

Une courbe d'étalonnage est la représentation graphique des données de quantité et de réponse pour un composé, obtenues à partir d'un ou plusieurs échantillons étalons.

Généralement, une aliquote de l'étalon est injectée , un signal est obtenu et la réponse est déterminée en calculant l'aire ou la hauteur du pic, comme décrit sur Figure 32, page 154.

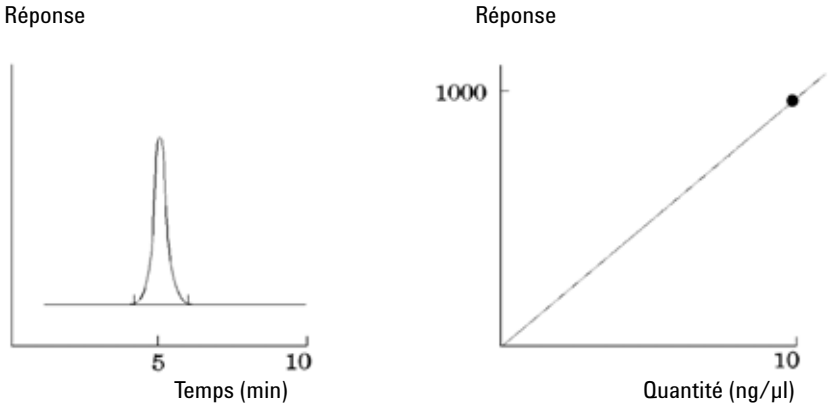


Figure 32 Signal de l'étalon (10 ng/µl) et courbe d'étalonnage

Un *coefficient de corrélation* est affiché avec le graphique de la courbe d'étalonnage. Le coefficient de corrélation correspond à la racine carrée du coefficient de régression et est une mesure de l'ajustement de la courbe d'étalonnage entre les points de données. La valeur du coefficient comporte trois décimales, dans la plage :

0,000 à 1,000

où :

0,000 = pas d'ajustement

1,000 = ajustement parfait

Le *résidu relatif* est affiché pour chaque niveau d'étalonnage. Il est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$relRES = \frac{Response_{calibrated} - Response_{calculated}}{Response_{calculated}} \cdot 100$$

où :

relRES = résidu relatif en pourcentage

La réponse calculée représente le point sur la courbe d'étalonnage.

L'*écart type des résidus,* qui apparaît dans certains rapports et lorsque les courbes et la table d'étalonnage sont imprimées, est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$ResSTD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (Resp_{calibratedi} - Resp_{calculatedi})^2}{n-2}}$$

où :

ResSTD = écart type du résidu

Respcalibratedi = réponse étalonnée pour le point i

Respcalculatedi = réponse calculée pour le point i

n = nombre de points d'étalonnage

Échantillons inconnus

Un échantillon inconnu est un échantillon contenant une quantité inconnue du composé à quantifier.

Pour déterminer la quantité du composé dans un échantillon inconnu, il est nécessaire de :

- générer une courbe d'étalonnage du composé,
- injecter une aliquote de l'échantillon inconnu et lancer l'analyse dans des conditions exactement identiques à l'échantillon étalon,
- déterminer la réponse à partir du signal, c'est-à-dire l'aire ou la hauteur du pic par rapport à la quantité inconnue du composé, et
- utiliser la courbe d'étalonnage pour calculer la quantité du composé dans l'échantillon inconnu.

Par exemple, si l'aire de pic d'un échantillon inconnu est égale à 500, il est possible de déterminer que la quantité du composé correspondant dans l'échantillon inconnu est de 5 ng/µl, en utilisant la courbe d'étalonnage de la Figure 33, page 156.

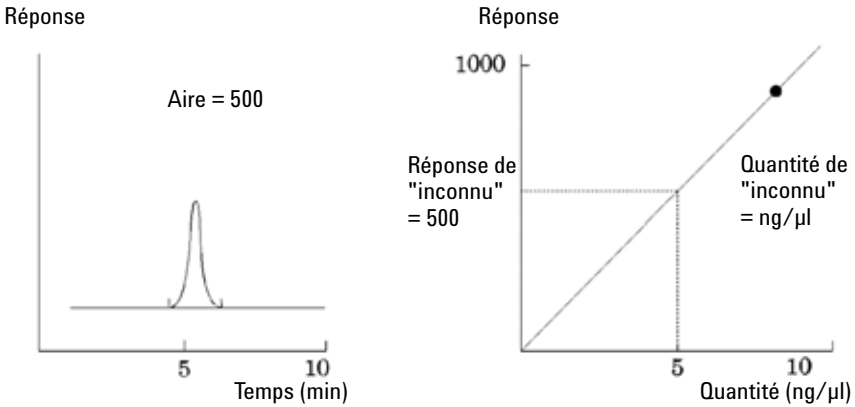


Figure 33 Signal d'un échantillon inconnu et courbe d'étalonnage

Types d'étalonnage

Le logiciel ChemStation propose deux types d'étalonnage : l'étalonnage à un seul niveau et l'étalonnage à plusieurs niveaux.

Étalonnage simple

La courbe d'étalonnage présentée dans Figure 34, page 157 comporte un seul point, c'est-à-dire un niveau. Avec une courbe d'étalonnage simple, la réponse du détecteur est censée être linéaire sur la plage de mesure des concentrations pour les échantillons concernés. Le facteur de réponse d'un pic de composant donné correspond à l'inverse de la pente de la courbe d'étalonnage passant par ce point et l'origine. L'étalonnage simple présente un inconvénient : la réponse du détecteur en fonction de la concentration d'un échantillon est censée être linéaire et passer par l'origine sur un tracé de la concentration en fonction de la réponse. Ce n'est pas toujours le cas et des résultats inexacts peuvent être générés.

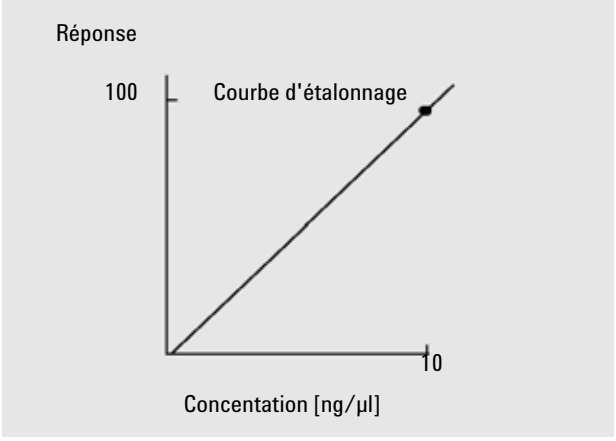


Figure 34 courbe d'étalonnage simple

Pour obtenir des résultats quantitatifs exacts, une courbe d'étalonnage doit comporter au moins deux niveaux. Ces niveaux doivent encadrer les quantités recherchées dans les échantillons inconnus.

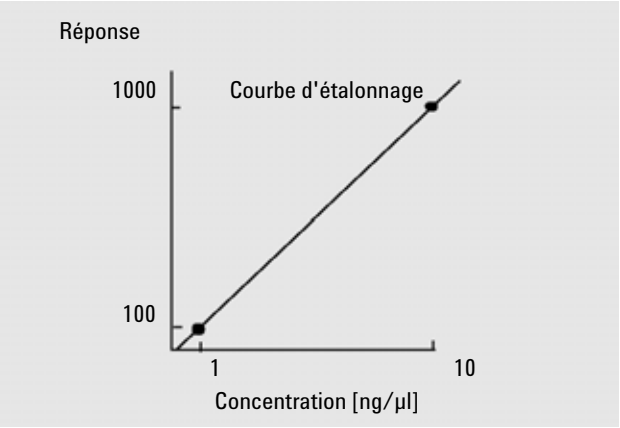


Figure 35 Courbe d'étalonnage à deux niveaux

Par exemple, si vous souhaitez quantifier un composé et que la concentration des échantillons inconnus devrait être comprise entre 1 et 10 ng/µl, la courbe d'étalonnage doit alors comporter au moins deux niveaux (voir Figure 35, page 158).

Limites quantitatives

ChemStation permet de définir des plages de quantification valides en terme de quantité absolue de chaque composant.

Étalonnage multiniveau

L'étalonnage à plusieurs niveaux peut être utilisé en cas de doute sur la linéarité de la réponse d'un composant ou pour confirmer la linéarité de la plage d'étalonnage. Chaque niveau d'étalonnage correspond à un échantillon étalon ayant une concentration donnée de composants. Les échantillons étalons doivent être préparés de sorte que la concentration de chaque composant varie dans la plage de concentrations attendue dans les échantillons inconnus. Il est ainsi possible de prévoir la variation de la réponse du détecteur en fonction de la concentration et calculer les facteurs de réponse en conséquence.

La courbe d'étalonnage multiniveau représentée comporte trois niveaux et illustre un ajustement linéaire passant par l'origine. La méthode d'ajustement linéaire passant par l'origine s'apparente à la méthode d'étalonnage simple. Il

est supposé que la réponse du détecteur en fonction de la concentration est linéaire. La différence entre ces deux types d'étalonnage est la suivante : dans le cadre d'un ajustement linéaire, la pente de la réponse du détecteur peut être déterminée par un ajustement passant par plusieurs points (un pour chaque niveau).

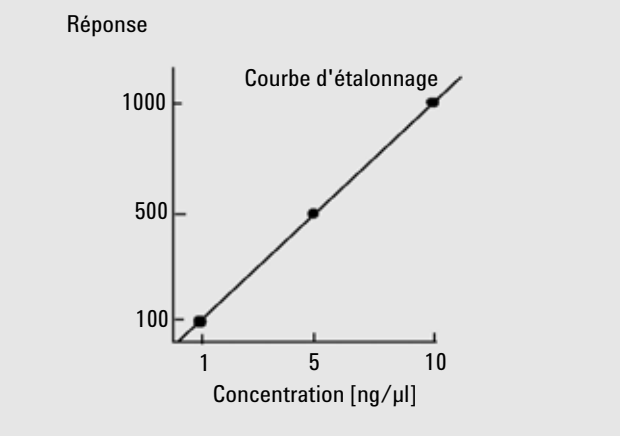


Figure 36 Courbe d'étalonnage multiniveau avec trois niveaux

La table d'étalonnage correspondante, qui présente sous forme de tableau les informations utilisées pour générer cette courbe, est semblable à celle présentée dans Tableau 14, page 159.

Tableau 14 Table d'étalonnage

Niveau	Quantité (ng/µl)	Réponse (calcul de l'aire)
1	1	100
2	5	500
3	10	1000

Dans cet exemple, les échantillons étalons utilisés pour générer les trois niveaux sont numérotés 1, 2 et 3.

Plages d'étalonnage

Chaque étalonnage à plusieurs niveaux est valable dans la plage de concentrations utilisée dans les échantillons d'étalonnage. L'extrapolation d'une courbe d'étalonnage, notamment en cas de non-linéarité, est dans le meilleur des cas une approximation. Vous pouvez définir la plage d'étalonnage valable pour chaque composé dans la boîte de dialogue Compound Details (Détails sur les composés). Pour chaque composé, vous pouvez indiquer une limite inférieure ou supérieure. Tout dépassement de ces limites fait l'objet d'une annotation dans le rapport.

Ajustement de la courbe d'étalonnage

Dans le cadre d'un étalonnage à plusieurs niveaux, vous pouvez calculer l'ajustement de la courbe selon différentes méthodes :

- Segment de droite linéaire
- Linéaire
- Logarithmique
- Puissance
- Exposant
- Quadratique
- Cubique
- Moyenne (réponse/quantité)

Ajustement non linéaire

Dans certains cas, la réponse du détecteur aux variations de concentration d'un échantillon n'est pas linéaire. Une méthode d'étalonnage par régression linéaire ne convient pas pour ces types d'analyse et un calcul d'étalonnage à plusieurs niveaux doit alors être envisagé.

Traitement de l'origine

Vous pouvez traiter l'origine de quatre façons différentes lors du tracé de la courbe de réponse :

- ignorer l'origine,
- intégrer l'origine,
- forcer l'origine, ou
- relier l'origine.

Pour forcer l'intégration de l'origine dans la courbe d'étalonnage, les points d'étalonnage sont mis en correspondance par rapport à l'origine, depuis le premier quadrant dans le troisième quadrant. L'utilisation de tous les points pour le calcul de régression assure que la courbe d'étalonnage passe par l'origine Ceci est également décrit dans Figure 37, page 161.

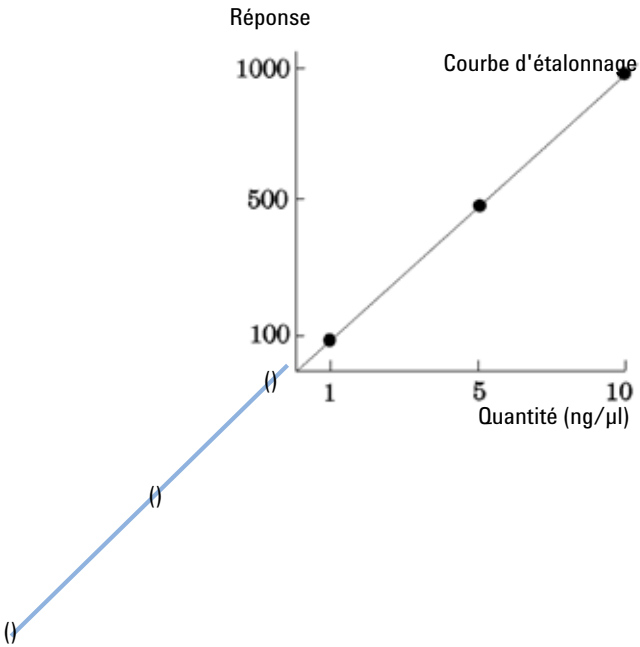


Figure 37 Forcer l'intégration de l'origine

Pour plus d'informations sur l'ajustement de la courbe d'étalonnage et le traitement de l'origine, voir l'*aide en ligne*.

Pondération des points d'étalonnage

Lorsque vous définissez la courbe d'étalonnage par défaut, il est possible de spécifier la pondération (ou importance) relative des différents points d'étalonnage utilisés pour générer la courbe.

Les options de pondération suivantes peuvent être sélectionnées :

Pondération	Description
Uniforme	Tous les points d'étalonnage ont la même importance dans la courbe.
Linéaire (quantité)	Un point d'étalonnage pour la quantité x possède un facteur de pondération 1/x, normalisé par rapport à la plus petite quantité, de telle sorte que le facteur de pondération le plus élevé soit 1. La normalisation est effectuée en multipliant la pondération par la plus petite quantité. Par exemple, la pondération d'un point d'étalonnage de quantité x est (1/x), où a désigne la plus petite quantité de composé étalon préparée dans les étalons. Si l'origine est intégrée, il lui est attribué la moyenne des pondérations des autres points d'étalonnage.
Linéaire (réponse)	Un point d'étalonnage de réponse y possède un facteur de pondération de 1/y, normalisé par rapport à la plus faible réponse, de sorte que le facteur de pondération le plus élevé soit 1. La normalisation est effectuée en multipliant la pondération par la plus faible réponse. Par exemple, la pondération d'un point d'étalonnage de quantité y est (1/y), où b désigne la réponse correspondant à la plus faible quantité de composé étalon préparée dans les étalons. Si l'origine est intégrée, il lui est attribué la moyenne des pondérations des autres points d'étalonnage.
Quadratique (quantité)	Un point d'étalonnage de quantité x possède un facteur de pondération de $1/x^2$, normalisé par rapport à la plus faible quantité, de sorte que le facteur de pondération le plus élevé soit 1. La normalisation est effectuée en multipliant la pondération par la plus faible quantité. Par exemple, la pondération d'un point d'étalonnage avec la quantité x est $(1/x^2) \times a^2$, où a désigne la plus faible quantité du composé étalon préparée dans les étalons.

Pondération	Description
Quadratique (réponse)	Un point d'étalonnage de réponse y possède un facteur de pondération de $1/y^2$, normalisé par rapport à la plus faible réponse, de telle sorte que le facteur de pondération le plus élevé soit 1. La normalisation est effectuée en multipliant la pondération par la plus faible réponse. Par exemple, la pondération d'un point d'étalonnage de quantité y est $(1/y^2) \times b^2$, où b désigne la réponse correspondant à la plus faible quantité de composé étalon préparée dans les étalons.
Nombre d'étalonnages	Un point d'étalonnage est pondéré en fonction de son nombre de réétalonnages. Aucune normalisation n'est effectuée.

Des pondérations de points d'étalonnage quadratique peuvent, par exemple, être utilisées pour ajuster la dispersion des points d'étalonnage. Les points d'étalonnage les plus proches de l'origine, qui sont généralement mesurés avec une plus grande précision, sont ainsi assurés d'obtenir une pondération plus élevée que les points d'étalonnage qui sont plus éloignés de l'origine et peuvent être dispersés.

La décision concernant le type de pondération des points d'étalonnage doit être basée sur les spécifications de votre méthode.

Étalonnage groupé

L'étalonnage groupé est applicable aux composés lorsque les concentrations individuelles ne sont pas connues, alors que la somme des concentrations d'un groupe de composés est connue. C'est par exemple le cas des isomères. Les groupes de composés entiers sont étalonnés. Les formules utilisées sont les suivantes :

Étalonnage

$$Conc_{AB} = RF_A \cdot Response_A + RF_B \cdot Response_B$$

où :

ConcAB désigne la concentration du groupe de composés comportant le composé A et le composé B.

$Response_A$ désigne l'aire (ou la hauteur) du composé A.

RF_A désigne le facteur de réponse.

Pour les composés qui appartiennent à un groupe de composés, nous partons du principe que les facteurs de réponse sont égaux :

$$RF_A = RF_B$$

La concentration d'un composé faisant partie d'un groupe se calcule par conséquent de la façon suivante :

$$Conc_A = \frac{Conc_{AB} \cdot Resp_A}{Resp_A + Resp_B}$$

Sommation des pics

La table de sommation des pics est proposée pour certaines applications de l'industrie pétrochimique et de l'industrie pharmaceutique qui peuvent être améliorées à l'aide des fonctions suivantes :

- Somme des aires des pics qui rentrent dans la plage définie par l'utilisateur
- Somme des aires d'une plage de pics et calculs à l'aide d'un seul multiplicateur
- Somme des aires de tous les pics portant le même nom

La table de sommation des pics s'apparente à la table d'étalonnage standard, avec néanmoins quelques différences. Tout comme la table d'étalonnage, elle est associée à la méthode active.

REMARQUE Vous devez créer la table d'étalonnage d'une analyse avant de créer la table de sommation des pics.

Réétalonnage

Qu'est-ce que le réétalonnage ?

Le processus de réétalonnage consiste à actualiser un niveau sur une courbe d'étalonnage. Lorsque vous procédez à un réétalonnage, vous analysez un autre échantillon qui contient les mêmes composés étalon que l'original, mais surtout la même quantité de ces composés. Lorsque vous analysez l'échantillon d'étalonnage, vous obtenez des facteurs de réponse et des temps de rétention/migration mis à jour. Vous pouvez également choisir de faire la moyenne des facteurs de réponse de plusieurs analyses d'étalonnage, de manière à pondérer les facteurs de réponse à parts égales.

Pourquoi réétalonner ?

La plupart des étalonnages ont une durée de vie limitée, en raison des variations de méthode chromatographique. Le réétalonnage s'avère nécessaire pour garantir l'exactitude de l'analyse. Considérons, par exemple, que vous avez créé une table d'étalonnage pour le composé caféine et que vous l'utilisez à chaque quantification d'échantillons contenant de la caféine. A un moment donné, vous devrez remplacer la colonne/le capillaire. Même si la colonne/le capillaire est remplacé par exactement un autre du même type, il ne se comportera pas exactement comme le précédent lorsque vous avez créé la table d'étalonnage pour la caféine. Par conséquent, pour préserver la cohérence, vous devez réétalonner les points dans la table d'étalonnage avant d'utiliser la nouvelle colonne/le nouveau capillaire, pour analyser des échantillons contenant des quantités inconnues de caféine. Vous procédez ainsi à la quantification d'échantillons analysés dans des conditions système identiques.

Réétalonnage manuel

Vous pouvez saisir manuellement des informations sur l'étalonnage des pics et normaliser la table d'étalonnage en sélectionnant le bouton d'option Manual Setup (Configuration manuelle) dans la boîte de dialogue New Calibration

Table (Nouvelle table d'étalonnage). Pour créer une méthode d'étalonnage, il convient généralement d'analyser un mélange étalon, de créer une table d'étalonnage et de saisir la quantité de tous les pics étalonnés pour obtenir les facteurs de réponse. Cette procédure s'avère toutefois inefficace dans le cas de certaines applications, notamment dans l'industrie pétrochimique, où les mêmes composés sont analysés depuis des années et où les facteurs de réponse des différents composés et détecteurs sont connus depuis longtemps.

Pour créer manuellement la table d'étalonnage, saisissez les pics et leurs facteurs de réponse dans la table d'étalonnage, réétalonnez la méthode à l'aide d'un étalon qui contient au moins un pic de référence et mettez à jour le % delta.

Réétalonnage avec sommation des pics

Lorsque vous effectuez un réétalonnage, les intervalles de temps de rétention/migration qui figurent dans la table de sommation des pics de la méthode sont actualisés préalablement au réétalonnage effectif. Le réétalonnage des sommations des pics est effectué sur ce modèle, de telle sorte que le delta soit intégré aux calculs des temps.

Options de réétalonnage

Vous pouvez actualiser les réponses qui figurent dans la table d'étalonnage avec les nouvelles données d'étalonnage de plusieurs façons.

Moyenne

La formule suivante permet de calculer la moyenne de toutes les analyses d'étalonnage :

$$Response = \frac{n \cdot Response + MeasResponse}{n + 1}$$

Moyenne flottante

La moyenne pondérée de toutes les analyses d'étalonnage est calculée. L'actualisation de la pondération est indiquée dans la boîte de dialogue Recalibration Settings (Paramètres de réétalonnage).

$$Response = \left(1 - \frac{Weight}{100}\right) \cdot Response + \left(\frac{Weight}{100}\right) \cdot MeasRespons$$

Remplacement

Les nouvelles valeurs des réponses remplacent les anciennes valeurs.

Modes de réétalonnage

Le logiciel ChemStation propose deux modes de réétalonnage. Vous pouvez procéder à un réétalonnage interactif ou à un réétalonnage automatique pendant une séquence d'analyses automatisée. Le réétalonnage interactif consiste à suivre directement les étapes du processus de réétalonnage à l'aide du logiciel ChemStation après avoir injecté un ou plusieurs échantillons étalons. Le réétalonnage séquentiel consiste à spécifier à quel moment le réétalonnage est effectué, mais le réétalonnage est ensuite effectué automatiquement par le logiciel. Pour plus d'informations, voir la section « Réétalonnage automatique », page 195.

Pour plus d'informations sur la procédure de réétalonnage à l'aide du logiciel, voir la procédure correspondante dans l'aide en ligne.

Réétalonnage des pics non identifiés

Vous pouvez réétalonner les pics non identifiés de trois façons.

Absence de réétalonnage

Lorsqu'un pic figurant dans la table d'étalonnage n'est pas identifiable dans les résultats d'intégration, l'étalonnage est abandonné. Dans le cadre d'une séquence, la séquence est également abandonnée.

Réétalonnage partiel

Cette fonction assure uniquement le réétalonnage des pics identifiés. Les pics manquants n'entraînent pas l'abandon du réétalonnage, mais ils font l'objet d'une annotation dans le rapport.

Réétalonnage de tous les temps de rétention/migration

Cette fonction permet le réétalonnage du temps de rétention/migration de tous les pics identifiés et non identifiés. Cette opération est effectuée sur la base des temps de rétention/migration des pics identifiés. Les facteurs de réponse des pics non identifiés ne sont pas actualisés.

8 Automatisation

Qu'est-ce que l'automatisation ? 173

Définition d'une séquence et d'un modèle de séquence 174

Boîte de dialogue Preferences (Préférences) - Onglet Sequence (Séquence) 175

Paramètres de séquence 177

Table de séquence 179

Création de séquences(séquences et modèles de séquence) 180

- Utilisation de l'éditeur de table de séquence 180
- Utilisation du bouton Insert Vial Range (Insérer une plage de flacons) 180
- Utilisation du bouton Append Line (Ajouter une ligne) 181
- Utilisation du bouton Custom Fields (Champs personnalisés) 181

Utilisation de séquences (séquences et modèles de séquence) 182

- Échantillons prioritaires 182
- Séquençage avec des échantillons de contrôle 182
- Arrêt d'une séquence 183
- Abandon d'une séquence 183
- Interruption d'une séquence 183
- Exécution d'une séquence partielle 183

Fichier journal de séquence 186

Procédure d'analyse de séquence 187

Structure d'un fichier de données de séquence (Unique Folder Creation ON [Mode Création de dossiers uniques activé]) 189

Attribution d'un nom à des fichiers de données dans une séquence 190

- Attribution automatique d'un nom à un fichier de données lors d'une séquence 190
- Saisie manuelle des noms de fichier de données 191

Fonctionnement post-séquence 193
Not Ready Timeout (Temporisation non prêt) (CPL et EC seulement) 193
Wait Time (Temps d'attente) (CPL et EC seulement) 194
Réétalonnage automatique 195
Spécification de réétalonnages 196
Paramètres de réétalonnage de la table de séquence 196
Types de séquence 199
Séquences d'étalonnage explicite 200
Séquences d'étalonnage cyclique à un niveau 201
Séquences d'étalonnage cyclique à plusieurs niveaux 202
Ordre d'analyse de la méthode A 203
Ordre d'analyse de la méthode B 204
Utilisation simultanée d'étalonnages explicites et cycliques 206
Exemple 206
Ordre d'analyse de SimpReg 207
Séquences d'étalonnage cyclique avec encadrement 208
Exemple 208
Fonctionnement d'une séquence encadrante 209
Exemple 210
Séquences de réétalonnage cyclique utilisant plusieurs flacons qui contiennent la même dilution d'étalon 212
Séquence de réétalonnage cyclique utilisant des flacons d'étalonnage « à la ronde » 212
Réétalonnages cycliques avec utilisation d'un flacon différent pour chaque étalonnage 214
Séquence encadrante utilisant des flacons différents pour les encadrements ouvrant et fermant 214

Ce chapitre décrit les principes de l'automatisation. Il décrit l'utilisation de séquences dans ChemStation, le processus d'analyse d'une séquence et la personnalisation des séquences.

Qu'est-ce que l'automatisation ?

L'automatisation désigne l'analyse sans surveillance de plusieurs injections.

Le composant séquentiel du logiciel ChemStation permet d'automatiser l'acquisition, l'évaluation des données et la génération des rapports.

Définition d'une séquence et d'un modèle de séquence

Une séquence est une série d'instructions qui automatise l'analyse d'échantillons.

Une séquence permet d'injecter automatiquement chaque échantillon, puis d'acquérir et d'analyser les données conformément à la méthode spécifiée pour l'échantillon en question. Chaque flacon d'échantillon utilisé dans une séquence peut être analysé avec une méthode analytique différente et donc utiliser différentes combinaisons de conditions de chromatographie/électrophorèse et de paramètres d'évaluation.

ChemStation propose deux modes de stockage des données pour vous permettre de choisir le modèle adapté à votre processus de traitement. Ces modes ont une influence sur l'utilisation de la séquence :

- Unique Folder Creation ON (Mode Création de dossiers uniques activé)
- Unique Folder Creation OFF (Mode Création de dossiers uniques désactivé)

Pour des raisons de cohérence des données d'échantillon, le mode Unique Folder Creation ON utilise les séquences comme des « modèles de séquence » qui permettent de répéter l'acquisition ; ces modèles ne sont toutefois pas utilisés lors d'un retraitement dans la vue Method and Run Control (Contrôle de méthode et d'analyse). Un conteneur de données de séquence comportant tous les fichiers correspondants est créé lors de l'exécution d'un modèle de séquence. Un nouveau conteneur de données de séquence est créé à chaque réutilisation d'un modèle.

Le mode Unique Folder Creation OFF permet de stocker toutes les données dans un répertoire. Étant donné que les fichiers *.s de séquence ne sont pas utilisés comme des modèles de séquence, la rééxécution d'une séquence risque d'écraser les données actuelles si le répertoire de données n'est pas modifié par l'utilisateur.

Les séquences/modèles de séquence disponibles (*.s) sont affichés dans l'Explorateur ChemStation. Pour y accéder rapidement et facilement, vous pouvez ajouter d'autres emplacements de séquence/modèles de séquence à l'arborescence de sélection de l'Explorateur à l'aide de l'onglet Paths (Chemins) de la boîte de dialogue Preferences (Préférences).

Boîte de dialogue Preferences (Préférences) - Onglet Sequence (Séquence)

Dans l'onglet Sequence (Séquence), l'utilisateur a le choix entre deux modèles de stockage des données. Ces modes définissent le stockage des données de séquence dans ChemStation.

Unique Folder Creation ON (Mode Création de dossiers uniques activé)

Ce mode de stockage des données établit un lien solide et permanent entre les données brutes et la méthode. Chaque fichier de données (qu'il soit acquis dans une séquence ou lors d'une analyse simple) est relié à deux méthodes au minimum : la méthode utilisée pour l'acquisition des données et celle utilisée pour l'analyse des données.

Les données de séquence sont enregistrées dans un conteneur de données de séquence portant un nom de conteneur de séquence défini. Il est possible de spécifier des conventions de noms (modèles de noms) pour ces conteneurs de séquence dans l'onglet Sequence (Séquence) de la boîte de dialogue Preferences (Préférences). Si aucun modèle de nom n'est spécifié, la définition de nom de séquence par défaut est utilisée. L'onglet Sequence (Séquence) est utilisé exclusivement pour l'acquisition de données et n'est donc présent que pour les systèmes en ligne.

Le modèle de nom de séquence peut comporter plusieurs sections. Le système attribue automatiquement un nom au conteneur de données de séquence en fonction des sections de modèle de nom de séquence que vous avez sélectionnées. Les fichiers de données, les méthodes, le journal de séquence, les fichiers séquence_nom.s et séquence_nom.b de cette séquence précise sont enregistrés dans le conteneur des données de séquence. Le conteneur de données de séquence est créé au démarrage de la séquence.

Les fichiers de séquence (.s) servent de modèles de séquence. Ce concept vous permet d'exécuter les fichiers séquences.s à plusieurs reprises sans écraser les données existantes ni modifier les paramètres de séquence. Si aucun chiffre ni délai n'est utilisé dans le modèle de nom de séquence, le système introduit automatiquement un compteur de manière à éviter d'écraser les données.

Lorsque qu'un même modèle de séquence est utilisé pour la deuxième séquence, la troisième séquence et les séquences suivantes, un compteur est ajouté au nom du conteneur de séquences.

Unique Folder Creation OFF (Mode Création de dossiers uniques désactivé)

Dans ce mode de stockage des données, le nom de la méthode représente le seul lien entre le fichier de données et la méthode utilisée pour l'acquisition et le traitement de ces données. Aucune copie de la méthode n'est enregistrée avec la séquence ou avec le fichier de données. Ainsi, si la méthode est modifiée ou si une nouvelle méthode est créée avec ce nom, la séquence ne peut pas être exactement reproduite. Les fichiers contenant les données de séquence sont stockés conformément aux paramètres spécifiés dans la partie Data File (Fichier de données) de la boîte de dialogue Sequence Parameters (Paramètres de séquence). Dans ce mode, la fonction d'attribution d'un nom aux séquences (disponible dans l'onglet Sequence [Séquence] de la boîte de dialogue Preferences [Préférences]) est désactivée. Ce mode de stockage étant identique à celui du logiciel ChemStation version B.02.01 (ou antérieure), il ne bénéficie pas des nouvelles fonctionnalités de révision/retraitement des données dans la vue Data Analysis (Analyse de données) de ChemStation.

REMARQUE Les données de séquence acquises avec l'option Unique folder Creation OFF doivent être retraitées à l'aide de l'option correspondante de la vue Method and Run Control (Contrôle de méthode et d'analyse).

REMARQUE Les outils complémentaires ChemStation OpenLAB 2189BA et ChemStore G2181BA requièrent le mode de préférence "Unique Folder Creation ON". Dès que la solution complémentaire est installée sur le logiciel ChemStation, l'option Unique Folder Creation OFF est désactivée.

Paramètres de séquence

La boîte de dialogue **Sequence Parameters** comporte des informations communes à tous les flacons d'échantillon d'une séquence. Vous pouvez utiliser cette boîte de dialogue pour :

- sélectionner le répertoire de données à l'aide de la zone de liste déroulante **Path** et saisir les informations relatives au nom de l'opérateur (le nom de l'opérateur saisi dans la boîte de dialogue du niveau d'accès est indiqué par défaut),
- indiquer le mode de traitement de la séquence en choisissant des paramètres Part of Methods to Run (Partie de la méthode à exécuter) spécifiques.

Par exemple, vous pouvez :

- exécuter la liste de vérification de l'exécution,
- effectuer uniquement l'acquisition,
- procéder uniquement au retraitement (pour les données acquises avec la version B.01.03 ou antérieure du logiciel ChemStation et pour les données acquises avec l'option Unique Folder Creation OFF [Mode Création de dossiers uniques désactivé]).

REMARQUE

Les données de séquence acquises via la ChemStation version B.01.03 (ou version antérieure) ou avec l'option Unique Folder Creation OFF doivent être retraitées via l'option correspondante de la vue Method and Run Control (Contrôle de méthode et d'analyse).

Les données de séquence acquises avec la version B.02.01 ou ultérieure du logiciel ChemStation doivent être retraitées à l'aide de l'option de retraitement figurant dans la table Data Analysis Navigation (Navigation dans l'analyse de données).

Lorsque vous sélectionnez l'option de retraitement, deux alternatives s'offrent à vous : vous pouvez utiliser les données d'échantillon définies lors de l'analyse initiale de l'échantillon ou utiliser les données d'échantillon actualisées en cochant la case Use Sequence Table (Utiliser la table de séquence), puis en entrant les nouvelles données dans cette table :

- Indiquez les actions à effectuer en fin de séquence à l'aide des paramètres d'arrêt.

- Spécifiez l'utilisation ou non de codes-barres dans la séquence, ainsi que le traitement d'une non-concordance de codes-barres, en partant du principe qu'un lecteur de codes-barres est installé sur le système.

Table de séquence

La table de séquence détermine les méthodes utilisées pour analyser les flacons d'échantillon, ainsi que l'ordre d'analyse des flacons. Cette table comporte également des informations sur chaque échantillon, parmi lesquelles le nom, les paramètres de quantification et les paramètres de réétalonnage.

Les instruments qui prennent en charge le double échantillonnage (CPG) sont répertoriés dans la zone de groupe Injector (Injecteur). Sélectionnez Front (Avant) ou Back (Arrière) pour afficher les lignes de la table de séquence, ainsi que l'état d'exécution en cours de l'injecteur concerné.

Pour obtenir la description des colonnes figurant dans cette table et connaître leur mode d'interaction avec les informations stockées dans la méthode, reportez-vous à l'aide en ligne.

Création de séquences(séquences et modèles de séquence)

Utilisez la table de séquence pour indiquer les échantillons, les méthodes et les flacons à analyser dans la séquence. La table de séquence répertorie chaque échantillon de la séquence dans l'ordre d'analyse. En outre, elle contient les informations relatives au flacon, à la méthode et à l'étalonnage nécessaires à chaque échantillon.

Utilisation de l'éditeur de table de séquence

Pour modifier l'apparence et le contenu de la table de séquence, vous pouvez ouvrir l'éditeur en cliquant sur le symbole de liste en bas à droite de la table. L'éditeur de table de séquence s'ouvre et permet de spécifier l'affichage ou non de certaines colonnes dans la table. De plus, vous pouvez modifier les largeurs de colonnes pour chaque colonne de la table. Selon les logiciels installés, d'autres champs de colonnes peuvent être ajoutés, par exemple le champ Target Mass (Masse cible) si un CPL/SM est installé ou le champ Study (Etude) pour l'installation d'un module complémentaire ChemStore.

Utilisation du bouton Insert Vial Range (Insérer une plage de flacons)

Si plusieurs échantillons utilisent la même méthode, vous pouvez les saisir rapidement dans la table de séquence via la fonction Insert Vial Range (Insérer une plage de flacons). Cette fonction copie le nom de la méthode, la plage de flacons et le nombre d'injections par flacon, et si vous les spécifiez, la quantité de l'échantillon, la quantité ISTD, le multiplicateur et la dilution. Le système entre ensuite ces informations pour chaque flacon de la plage dans la table de séquence.

Utilisation du bouton Append Line (Ajouter une ligne)

Pour ajouter une nouvelle ligne vide à la fin de la table de séquence, cliquez sur le bouton Append Line (Ajouter une ligne).

Utilisation du bouton Custom Fields (Champs personnalisés)

Si des champs personnalités ont été définis dans la/les méthode(s) utilisée(s) dans la table de séquence, le bouton Custom Fields permet de modifier les valeurs des champs personnalisés pour chaque échantillon (champs personnalisés d'échantillon) ou pour chaque composé dans la méthode d'un échantillon (champs personnalisés de composé).

Utilisation de séquences (séquences et modèles de séquence)

Le menu Sequence (Séquence) permet de créer et d'accéder à des séquences et modèles de séquence. Vous pouvez créer et enregistrer des séquences de la même façon que les méthodes. Lorsque vous enregistrez une séquence, un fichier .S est créé. Pour modifier ou réutiliser la séquence, celle-ci est accessible par exemple à l'aide de l'option Load Sequence (Charger la séquence) du menu Sequence (Séquence).

Échantillons prioritaires

Une séquence en cours d'analyse peut être interrompue une fois la méthode en cours terminée. La séquence peut être interrompue pour permettre l'analyse d'un échantillon prioritaire via la même méthode ou une méthode différente. La séquence peut alors être reprise à l'endroit où elle a été interrompue, avec l'échantillon concerné.

Séquençage avec des échantillons de contrôle

Vous pouvez spécifier des échantillons de contrôle dans le champ Sample Type (Type d'échantillon) de la table de séquence. La méthode utilisée pour analyser l'échantillon de contrôle doit contenir une table d'étalonnage où sont indiquées les limites d'échantillon de contrôle pour l'un des composés. En cas de dépassement des limites d'échantillon de contrôle spécifiées, la séquence est arrêtée et un message est consigné dans le journal. Si vous utilisez l'un des styles de rapport ChemStation, les limites d'échantillon de contrôle sont également imprimées sur les rapports générés pour ces analyses. Pour plus d'informations sur le mode de définition d'une séquence avec des échantillons de contrôle, reportez-vous à la section How To (Comment faire) de l'aide en ligne.

Arrêt d'une séquence

L'analyse active prend fin avant que la séquence s'arrête. Une séquence arrêtée ne peut absolument pas être reprise.

Abandon d'une séquence

La fonction Abort (Abandonner) met immédiatement fin à une séquence active.

Interruption d'une séquence

Lors de l'interruption d'une séquence, vous ne pouvez modifier ni le nom du fichier de la table de séquence ni celui du fichier de données. Dans la table de séquence, vous pouvez uniquement modifier les lignes de séquence qui n'ont pas encore été exécutées ou le numéro de flacon figurant sur la ligne de séquence en cours. Vous pouvez ajouter, supprimer ou modifier des lignes de séquence des analyses ultérieures.

Par exemple, il peut s'avérer nécessaire de modifier une séquence active pour y ajouter un nouveau lot d'échantillons. Vous modifiez donc la séquence afin que ces flacons constituent l'échantillon suivant que ChemStation traitera après les échantillons sur la ligne de séquence en cours d'analyse.

Exécution d'une séquence partielle

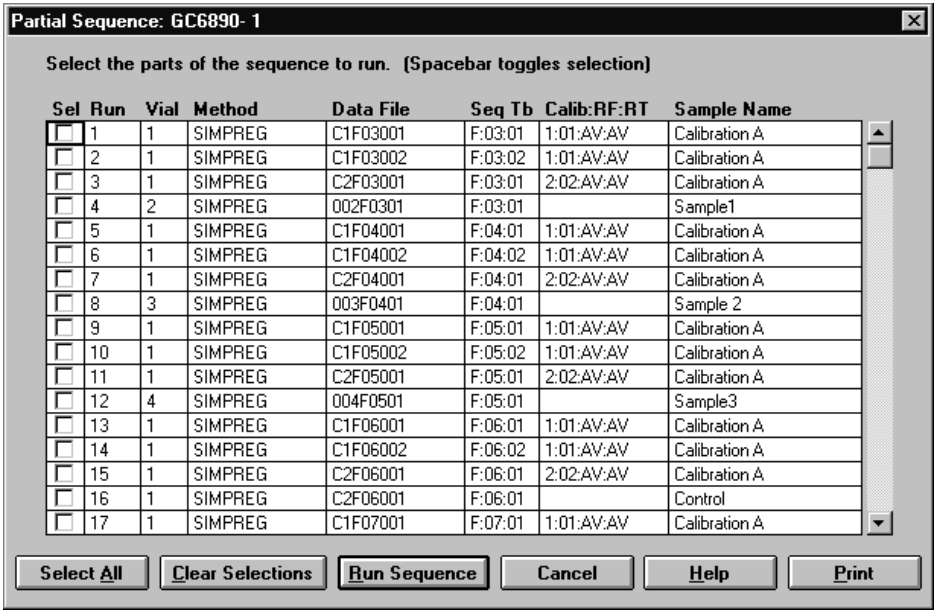
Vous pouvez partiellement exécuter une table de séquence déjà configurée en sélectionnant Partial Sequence (Séquence partielle) dans le menu Sequence (Séquence). Le système affiche la boîte de dialogue Partial Sequence (Séquence partielle) dans laquelle vous sélectionnez les échantillons à analyser.

Une analyse simple est répertoriée sur chaque ligne de la boîte de dialogue Partial Sequence (Séquence partielle). Le flacon, la méthode, le fichier de données et le nom de l'échantillon sont spécifiés pour chaque analyse. En outre, les informations relatives à la table de séquence et aux étalons sont fournies

sous forme codée dans les colonnes Seq Tbl (Tbl séq) et Calib:RF:RT (Etal:FR:TR). Reportez-vous à l'aide en ligne pour connaître la description de ces codes.

Générez une version papier de la séquence partielle en cliquant sur le bouton Print (Imprimer).

La boîte de dialogue Partial Sequence (Séquence partielle) suivante apparaît lorsque la méthode SimpReg et la table de séquence, illustrées plus loin dans les figures Tableau 20, page 206 et Tableau 21, page 207, sont actives. Les échantillons 1, 2, 4, 5 et 8 sont marqués pour traitement.



Sel	Run	Vial	Method	Data File	Seq Tb	Calib:RF:RT	Sample Name
☐	1	1	SIMPREG	C1F03001	F:03:01	1:01:AV:AV	Calibration A
☐	2	1	SIMPREG	C1F03002	F:03:02	1:01:AV:AV	Calibration A
☐	3	1	SIMPREG	C2F03001	F:03:01	2:02:AV:AV	Calibration A
☐	4	2	SIMPREG	002F0301	F:03:01		Sample1
☐	5	1	SIMPREG	C1F04001	F:04:01	1:01:AV:AV	Calibration A
☐	6	1	SIMPREG	C1F04002	F:04:02	1:01:AV:AV	Calibration A
☐	7	1	SIMPREG	C2F04001	F:04:01	2:02:AV:AV	Calibration A
☐	8	3	SIMPREG	003F0401	F:04:01		Sample 2
☐	9	1	SIMPREG	C1F05001	F:05:01	1:01:AV:AV	Calibration A
☐	10	1	SIMPREG	C1F05002	F:05:02	1:01:AV:AV	Calibration A
☐	11	1	SIMPREG	C2F05001	F:05:01	2:02:AV:AV	Calibration A
☐	12	4	SIMPREG	004F0501	F:05:01		Sample3
☐	13	1	SIMPREG	C1F06001	F:06:01	1:01:AV:AV	Calibration A
☐	14	1	SIMPREG	C1F06002	F:06:02	1:01:AV:AV	Calibration A
☐	15	1	SIMPREG	C2F06001	F:06:01	2:02:AV:AV	Calibration A
☐	16	1	SIMPREG	C2F06001	F:06:01		Control
☐	17	1	SIMPREG	C1F07001	F:07:01	1:01:AV:AV	Calibration A

Figure 38 Boîte de dialogue Partial Sequence (Séquence partielle)

Séquence partielle en mode de préférence Unique Folder Creation ON (Mode Création de dossiers uniques activé)

Les données de séquence sont stockées dans un conteneur de données de séquence portant un nom de conteneur de séquence défini. Si vous exécutez une séquence partielle, le système crée un nouveau conteneur de données de séquence en utilisant les paramètres Preference (Préférence), chaque fois

qu'une partie de cette séquence est exécutée. Il est donc possible de créer (par exemple) trois conteneurs de données pour la même séquence en exécutant trois fois une séquence partielle basée sur cette séquence.

Séquence partielle en mode de préférence Unique Folder Creation OFF (Mode Création de dossiers uniques désactivé)

Les fichiers contenant les données de séquence sont stockés conformément aux paramètres spécifiés dans la partie Data File (Fichier de données) de la boîte de dialogue Sequence Parameters (Paramètres de séquence). Même si la séquence est exécutée partiellement, tous les fichiers de données sont stockés dans le même sous-répertoire.

Fichier journal de séquence

Un fichier journal indiquant tous les événements qui se sont produits lors de la séquence est généré. Il est utile pour identifier notamment le moment où des erreurs surviennent si la séquence est analysée sans surveillance ou pendant la nuit. Le nom du fichier journal porte toujours l'extension .log. Le fichier journal est stocké dans le répertoire où sont stockées les données de la séquence.

Procédure d'analyse de séquence

Lancement d'une séquence en mode Unique Folder Creation ON (Mode Création de dossiers uniques activé)

Le système crée un conteneur des données de séquence à partir de la définition de chemin définie dans les paramètres et les préférences de la séquence. Toutes les méthodes définies dans la table de séquence appartenant à cette séquence spécifique sont copiées dans le conteneur. Le système continue d'utiliser ces fichiers au cours de l'acquisition. Au début de la séquence, la méthode de la ligne de séquence correspondante est chargée dans ChemStation à partir du conteneur.

Lancement d'une séquence en mode Unique Folder Creation OFF (Mode Création de dossiers uniques désactivé)

Au début d'une séquence, le système charge le fichier *.s de cette séquence puis, en fonction de l'entrée dans la table de séquence, charge la méthode correspondante dans ChemStation. Contrairement au mode de stockage Unique Folder Creation ON, aucun conteneur des données de séquence n'est créé. Les séquences et méthodes restent dans leur répertoire maître.

Autres opérations effectuées lors de l'exécution d'une séquence :

Les étapes suivantes sont répétées pour chaque ligne de séquence exécutée :

- S'il est équipé d'un injecteur automatique, le logiciel ChemStation repère d'abord l'échantillon sur cet instrument à l'aide du numéro saisi dans la colonne Vial (Flacon).
- L'instrument est chargé avec les paramètres de méthode.
- La macro de pré-analyse est exécutée.
- L'échantillon est ensuite injecté dans l'instrument (manuellement ou automatiquement).

- L'évaluation des données de méthode est effectuée. C'est-à-dire l'intégration, la quantification et la génération de rapport, ainsi que toute macro éventuelle spécifiée par l'utilisateur. Si le mode Unique Folder Creation ON (Mode Création de dossiers uniques activé) est utilisé, le système stocke deux méthodes supplémentaires (ACQ.M et DA.M) lors de l'analyse.
- La macro post-analyse est exécutée.
- Pendant tout le processus, ChemStation suit la progression de la séquence en temps réel et génère un fichier journal de séquence.

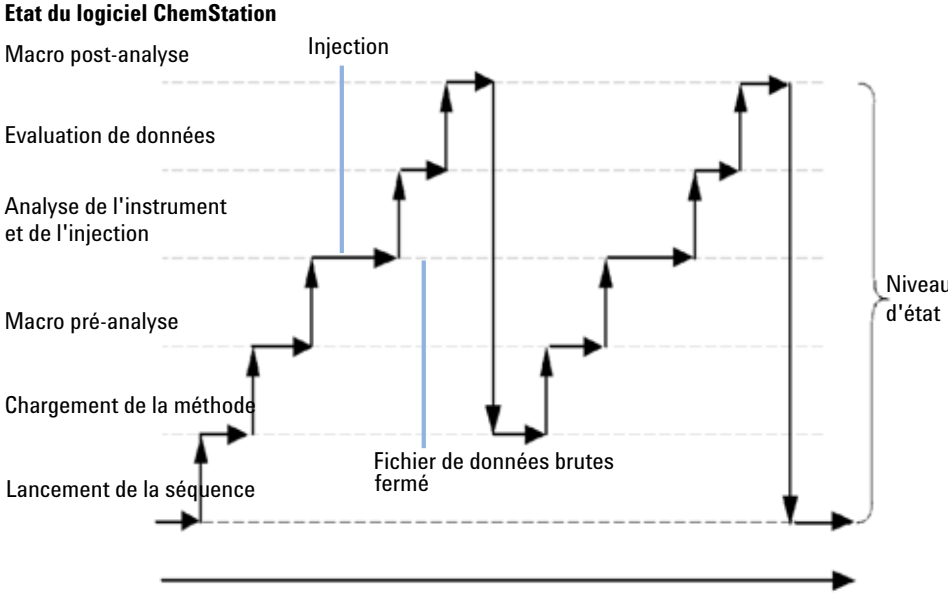


Figure 39 État de la séquence

Structure d'un fichier de données de séquence (Unique Folder Creation ON [Mode Création de dossiers uniques activé])

Dans ChemStation version B.02.01 ou supérieure, le lien entre les données brutes et la méthode a été renforcé, comme l'illustre la figure Structure d'un fichier de données de séquence en mode Unique Folder Creation ON.

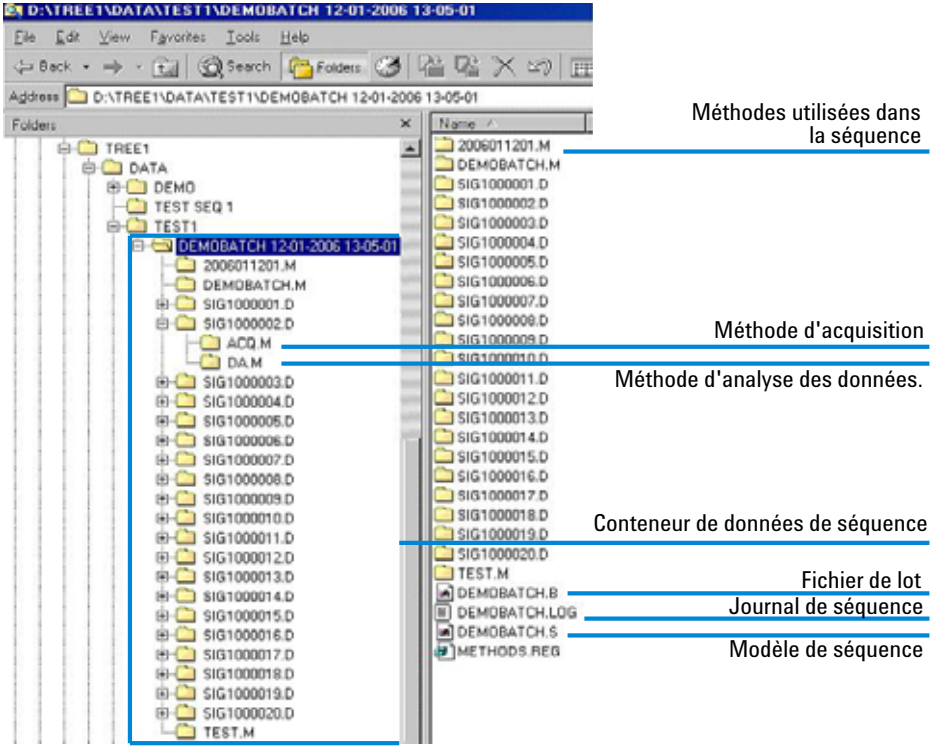


Figure 40 Structure d'un fichier de données de séquence

Attribution d'un nom à des fichiers de données dans une séquence

Il existe plusieurs méthodes pour attribuer un nom aux fichiers de données d'une séquence :

- automatique,
- manuelle ou
- à l'aide d'un préfixe/compteur.

Attribution automatique d'un nom à un fichier de données lors d'une séquence

Flacons d'échantillon

Par exemple, 017-0103.D.

où :

- Les trois premiers chiffres représentent le numéro du flacon (017).
- Le quatrième chiffre en chromatographie liquide et en électrophorèse capillaire est un tiret de séparation (-). En chromatographie gazeuse (CPG), il s'agit du caractère (F), qui désigne l'avant, ou du caractère (B), qui désigne l'arrière.
- Les cinquième et sixième chiffres constituent la ligne de séquence définissant la méthode utilisée (par exemple, 01 pour la première ligne de séquence).
- Les septième et huitième chiffres représentent le numéro d'injection de ce flacon par la méthode (par exemple, 03 pour la troisième injection).

Analyses de blanc

Par exemple, NV--0499.D.

où :

- NV (no vial) désigne l'absence de flacon.
- - est un tiret de séparation.
- 0499 est la 99^{e} analyse de blanc de la ligne de séquence 4.

Saisie manuelle des noms de fichier de données

L'une des colonnes de la table de séquence s'intitule Datafile (Fichier de données). Si elle ne comporte aucune entrée, le système d'attribution (automatique ou préfixe/compteur) de noms de fichier de données spécifié permet de créer le nom du fichier de données. Si du texte est saisi dans la colonne Datafile (Fichier de données), ChemStation l'utilise comme nom de fichier de données pour l'analyse.

Si plusieurs injections par flacon sont spécifiées sur une ligne dont le nom de fichier de données a été saisi manuellement, ChemStation remplace automatiquement les caractères à la fin du nom entré par l'utilisateur par le numéro d'injection. Cela empêche la réutilisation du même nom de fichier de données pour différentes injections.

Utilisation d'un préfixe/compteur pour nommer des fichiers de données

Si vous utilisez le préfixe/compteur pour nommer des fichiers de données, ChemStation crée un nom pour chaque analyse. Dans le cas d'un instrument prenant en charge l'analyse à signal double, comme le CPG, ChemStation crée un nom pour chaque signal.

La configuration de séquence autorise les noms de fichiers longs pour le préfixe/compteur. Le nom de fichier de données défini par le préfixe/compteur peut avoir jusqu'à quinze caractères plus l'extension .d, soit dix-sept caractères au total.

Les règles ci-dessous s'appliquent au champ préfixe/compteur :

- le compteur lui-même peut avoir au maximum 6 caractères
- si un préfixe fournit moins de neuf caractères pour le préfixe, le compteur est étendu automatiquement à 6 chiffres
- le nom donné dans le compteur est le numéro de départ de l'incrémentation

Tableau 15

Prefix (Préfixe)	Compteur	résultats dans le nom de fichier
long	000001	long000001
longname	000001	longname000001
testwithalongna	1	testwithalongna1

Fonctionnement post-séquence

Vous pouvez indiquer ce qui doit se passer au terme d'une séquence d'exécution normale ou si ChemStation détecte une erreur durant la séquence. En chromatographie en phase liquide (CPL), vous cochez pour cela la case post-sequence Cmd/Macro (Cmd/macro post-séquence) des paramètres de séquence, où vous avez le choix entre :

- Mettre le système en état STANDBY, auquel cas la pompe est arrêtée et la lampe éteinte,
- Mettre le système en état LAMPOFF avec toutes les lampes inactives (off) (CPL et EC seulement),
- Mettre le système en état PUMPOFF avec toutes les pompes inactives (off) (CPL et EC seulement) ou
- Utiliser une macro SHUTDOWN par défaut ou modifier SHUTDOWN.MAC pour déterminer une opération spécifique.

  Par exemple, vous pouvez arrêter le système au terme de la séquence. La macro d'arrêt peut également servir à paramétrer le débit sur zéro ou à le réduire légèrement.

Dans les paramètres de séquence, vous pouvez indiquer la macro personnalisée à exécuter en incluant son nom dans le champ Post-Sequence Cmd/Macro (Cmd/macro post-séquence), puis en cochant la case.

Not Ready Timeout (Temporisation non prêt) (CPL et EC seulement)

La valeur Not Ready Timeout (Temporisation non prêt) des paramètres de séquence représente le temps d'attente nécessaire du système avant que l'instrument soit prêt. Une fois ce laps de temps écoulé, le système s'arrête.

Wait Time (Temps d'attente) (CPL et EC seulement)

Les paramètres de séquence vous permettent d'indiquer un temps d'attente qui est exécuté une fois la méthode chargée et avant l'injection à l'aide de cette méthode. Cela permet de rééquilibrer les colonnes/les capillaires lorsque de nouvelles conditions d'analyse sont utilisées.

Réétalonnage automatique

En général, l'étalonnage s'effectue après toute modification des conditions de fonctionnement (par exemple, changement de colonne ou de capillaire). Le réétalonnage automatique a lieu habituellement au début d'une séquence d'analyses ou à intervalles réguliers, durant une séquence d'un programme, pour compenser les facteurs ayant un impact sur les performances d'analyse.

Il existe deux méthodes pour spécifier le réétalonnage de séquence automatique :

- les séquences d'étalonnage explicite ou
- les séquences d'étalonnage cyclique.

Réétalonnage en mode de préférence Unique Folder Creation ON (Mode Création de dossiers uniques activé)

Pendant une opération de réétalonnage, la table d'étalonnage de la méthode utilisée est mise à jour en fonction des paramètres définis pour cette méthode. En mode de stockage Unique Folder Creation ON (Mode Création de dossiers uniques activé), les méthodes réétalonnées sont disponibles dans le conteneur des données de séquence. La table d'étalonnage de la méthode de séquence est mise à jour pendant ce processus. En outre, la méthode DA.M de chaque fichier de données contient l'étalonnage mis à jour utilisé pour la création des résultats.

Réétalonnage en mode de préférence Unique Folder Creation OFF (Mode Création de dossiers uniques désactivé)

Pendant une opération de réétalonnage, la table d'étalonnage de la méthode utilisée est mise à jour en fonction des paramètres définis pour cette méthode. En mode de stockage Unique Folder Creation OFF (Mode Création de dossiers uniques désactivé), la table d'étalonnage de la méthode maîtresse est mise à jour pendant le réétalonnage.

Spécification de réétalonnages

Les paramètres de réétalonnage de la séquence sont saisis directement dans la table de séquence. Ces paramètres définissent le mode de réétalonnage de la méthode durant une séquence.

Paramètres de réétalonnage de la table de séquence

Le facteur de réponse et les temps de rétention/migration peuvent être mis à jour de plusieurs manières. Le niveau d'étalonnage, la mise à jour du facteur de réponse et la mise à jour des temps de rétention/migration sont des instructions utilisées dans l'analyse de données lors du réétalonnage de la table d'étalonnage.

Lorsque l'étalonnage est spécifié dans la colonne SampleType (Type d'échantillon) de la table d'échantillons, les colonnes suivantes sont actives et modifiables :

- Cal Level (Niveau d'étalonnage)
- Update RT (Mettre à jour le temps de rétention)
- Update RF (Mettre à jour le facteur de réponse)
- Interval (Intervalle)

Les valeurs que vous pouvez saisir dans chacune de ces colonnes sont répertoriées dans le tableau suivant.

Tableau 16 Paramètres de réétalonnage de la table de séquence

CAL Level (Niveau d'étalonnage)	Update RT (Mettre à jour le temps de rétention)	Update RF (Mettre à jour le facteur de réponse)	Interval (Intervalle)
Calibration table level # (1-999) (Niveau de table d'étalonnage - 1-999)	No update (Aucune mise à jour)	No update (Aucune mise à jour)	Cyclic recalibration interval # (1-999) (Intervalle de réétalonnage cyclique - 1-999)
	Moyenne	Moyenne	Blank (Blanc)

Tableau 16 Paramètres de réétalonnage de la table de séquence

CAL Level (Niveau d'étalonnage)	Update RT (Mettre à jour le temps de rétention)	Update RF (Mettre à jour le facteur de réponse)	Interval (Intervalle)
	Remplacement	Remplacement	
		Bracket (Encadrement)	
		Delta% (% delta)	

Ce tableau indique les colonnes de la table de séquence contenant les paramètres de réétalonnage et les valeurs que vous pouvez entrer.

No Update (Aucune mise à jour)

Ne change pas le facteur de réponse ou le temps de rétention/migration.

Remplacement

Remplace les temps de rétention/migration précédents et la réponse (aires ou hauteurs) par ceux de l'analyse en cours seulement. La réponse n'est pas modifiée pour les pics introuvables dans cette analyse d'étalonnage.

Moyenne

Etablit les temps de rétention/migration précédents et les réponses (aires ou hauteurs) pour chaque pic, en se basant sur l'analyse d'étalonnage originale et tous les réétalonnages depuis lors. S'il manque un pic dans l'un des réétalonnages, la réponse moyenne correspondante n'est pas affectée.

Bracket (Encadrement)

Les échantillons sont encadrés par des étalonnages pré-échantillon et post-échantillon. L'évaluation a lieu après l'analyse du dernier étalon de l'encadrement. Les données d'étalonnage existantes sont remplacées par les résultats de l'analyse d'étalonnage du début de l'encadrement. La moyenne des étalonnages de fin de l'encadrement est établie sur celle de la table d'étalonnage.

Interval (Intervalle)

L'intervalle détermine la fréquence d'un étalonnage lors d'une séquence. Cette fréquence correspond au nombre d'injections d'échantillon effectuées avant les injections d'étalons suivantes. Au début de l'analyse, un étalonnage est exécuté et les résultats (facteurs de réponse) sont saisis dans la table d'étalonnage. Ces résultats sont ensuite utilisés dans les calculs quantitatifs ultérieurs. Une fois le nombre d'injections spécifié effectué, un autre étalonnage est exécuté et les résultats sont saisis dans la table d'étalonnage, écrasant ainsi les résultats de l'analyse d'étalonnage précédente.

Delta% (% delta)

Le calcul de la valeur delta% (% delta) permet de comparer les facteurs de réponse d'une analyse à ceux entrés manuellement dans une table d'étalonnage. La valeur delta% est ensuite appliquée à tous les pics étalonnés de la table. Vous pouvez identifier plusieurs étalons internes. Les facteurs de réponse mesurés correspondants servent à calculer de nouveaux facteurs de réponse pour les autres pics. Vous identifiez l'étalon interne à utiliser pour le calcul de la valeur delta% pour chaque pic dans la table d'étalonnage.

Types de séquence

Les types de séquence sont les suivants :

- séquences d'étalonnage explicite,
- séquences d'étalonnage explicite à un niveau,
- séquences d'étalonnage cyclique à plusieurs niveaux,
- étalonnages explicites et cycliques utilisés simultanément dans une séquence, et
- séquences d'étalonnage cyclique avec étalonnages encadrants.

Séquences d'étalonnage explicite

Ce type de séquence effectue le réétalonnage aux intervalles spécifiés par vos soins dans la table de séquence.

Pour les séquences d'étalonnage explicite, les étalons sont entrés dans la séquence sans qu'aucune entrée d'intervalle ne soit fournie dans la table de séquence. Le réétalonnage a lieu une fois pour chaque entrée d'étalon de la table de séquence.

Séquences d'étalonnage cyclique à un niveau

Ce type de séquence utilise le même flacon (l'étalon) à intervalles réguliers dans la séquence.

L'entrée d'intervalle de la table de séquence détermine le mode d'exécution du réétalonnage. Par exemple, la valeur d'intervalle 2 effectue le réétalonnage tous les deux flacons d'échantillon de la séquence.

Séquences d'étalonnage cyclique à plusieurs niveaux

Ce type de séquence utilise différents étalons pour réétalonner une méthode étalonnée à plusieurs niveaux.

L'exemple suivant décrit une séquence à deux méthodes (A et B) pour analyser deux groupes d'échantillons. Il s'agit de méthodes d'étalonnage à plusieurs niveaux qui se réétalonnent automatiquement à intervalles définis.

Pour chaque méthode, la table de séquence inclut trois entrées :

- Deux niveaux d'étalonnage :
  - Lignes de séquence 1 et 2 dans la méthode A.
  - Lignes de séquence 8 et 9 dans la méthode B.
- Cinq entrées pour les échantillons :
  - Ligne de séquence 3 à 7 dans la méthode A.
  - Ligne de séquence 10 à 14 dans la méthode B.

Les étalonnages sont spécifiés à intervalles réguliers par l'entrée d'intervalle de réétalonnage dans la table de réétalonnage de séquence.

- La méthode A se réétalonne tous les deux échantillons.
- La méthode B se réétalonne tous les trois échantillons.

La table de séquence ci-dessous a été abrégée pour simplifier l'exemple.

Tableau 17 Table de séquence des méthodes A et B

Ligne	Flacon	Nom de méthode	Injection/ flacon	Type d'échantillon	Cal Level (Niveau d'étalonnage)	Update RF (Mettre à jour le facteur de réponse)	Update RT (Mettre à jour le temps de rétention)	Interval (Intervalle)
1	1	Méthode A	1	Étalonnage	1	Moyenne	No update (Aucune mise à jour)	2
2	2	Méthode A	1	Étalonnage	2	Moyenne	No update (Aucune mise à jour)	2

Tableau 17 Table de séquence des méthodes A et B

Ligne	Flacon	Nom de méthode	Injection/ flacon	Type d'échantillon	Cal Level (Niveau d'étalonnage)	Update RF (Mettre à jour le facteur de réponse)	Update RT (Mettre à jour le temps de rétention)	Interval (Inter-valle)
3	10	Méthode A	1					
4	11	Méthode A	1					
5	12	Méthode A	1					
6	13	Méthode A	1					
7	14	Méthode A	1					
8	3	Méthode B	1	Étalonnage	1	Moyenne	No update (Aucune mise à jour)	3
9	5	Méthode B	2	Étalonnage	2	Moyenne	No update (Aucune mise à jour)	3
10	20	Méthode B	1					
11	21	Méthode B	1					
12	22	Méthode B	1					
13	23	Méthode B	1					
14	24	Méthode B	1					

Ordre d'analyse de la méthode A

Cette section décrit l'ordre d'analyse de la méthode A, première partie de la séquence à deux méthodes.

Tableau 18 Ordre d'analyse de la méthode A

N° d'injection	Method (Méthode)	Flacon	Opération
1	Méthode A	1	Niveau d'étalonnage 1 et rapport

Tableau 18 Ordre d'analyse de la méthode A

2	Méthode A	2	Niveau d'étalonnage 2 et rapport
3	Méthode A	10	Analyse d'échantillon et rapport
4	Méthode A	11	Analyse d'échantillon et rapport
5	Méthode A	1	Niveau d'étalonnage 1 et rapport
6	Méthode A	2	Niveau d'étalonnage 2 et rapport
7	Méthode A	12	Analyse d'échantillon et rapport
8	Méthode A	13	Analyse d'échantillon et rapport
9	Méthode A	1	Niveau d'étalonnage 1 et rapport
10	Méthode A	2	Niveau d'étalonnage 2 et rapport
11	Méthode A	14	Analyse d'échantillon et rapport

Ordre d'analyse de la méthode B

Cette section décrit l'ordre d'analyse de la méthode B, deuxième partie de la séquence à deux méthodes.

La méthode B présente les différences suivantes par rapport à la méthode A :

- Il y a deux injections par flacon pour le niveau d'étalonnage 2. L'entrée d'intervalle est paramétrée sur 3.

Tableau 19 Ordre d'analyse de la méthode B

N° d'injection	Method (Méthode)	Flacon	Opération
12	Méthode B	3	Niveau d'étalonnage 1 et rapport
13	Méthode B	5	Niveau d'étalonnage 2 et rapport
14	Méthode B	5	Niveau d'étalonnage 2 et rapport
15	Méthode B	20	Analyse d'échantillon et rapport
16	Méthode B	21	Analyse d'échantillon et rapport
17	Méthode B	22	Analyse d'échantillon et rapport

Tableau 19 Ordre d'analyse de la méthode B

18	Méthode B	3	Niveau d'étalonnage 1 et rapport
19	Méthode B	5	Niveau d'étalonnage 2 et rapport
20	Méthode B	5	Niveau d'étalonnage 2 et rapport
21	Méthode B	23	Analyse d'échantillon et rapport
22	Méthode B	24	Analyse d'échantillon et rapport

Notez que les résultats répertoriés dans le Tableau 18, page 203 et le Tableau 19, page 204 s'obtiennent au moyen d'une séquence partielle, de façon à avoir un aperçu de l'ordre d'analyse une fois la table de séquence configurée.

Utilisation simultanée d'étalonnages explicites et cycliques

Ce type de séquence compose des étalonnages explicites et cycliques dans la même séquence.

Cette fonction permet de réétalonner complètement la méthode au début d'une séquence (*réétalonnage explicite*), puis de mettre à jour l'étalonnage (*réétalonnage cyclique*) au cours de la séquence.

- *Deux lignes d'étalonnage pour chaque niveau d'étalonnage dans la table de séquence doivent être spécifiées.* Une ligne d'étalonnage est réservée à l'entrée de réétalonnage explicite et l'autre à l'entrée de réétalonnage cyclique.
- La table de séquence *doit* contenir des entrées pour chaque ligne d'étalonnage. De plus, tous les flacons de réétalonnage cyclique *doivent* apparaître avant les entrées de réétalonnage explicite et les entrées d'échantillon.

Exemple

La table de séquence ci-dessous illustre une méthode étalonnée à un niveau, SimpReg. Elle a été abrégée pour simplifier l'exemple.

Tableau 20 Table de séquence de SIMPREG

1	1	SimpReg	1	Étalonnage	1	Moyenne	Moyenne	3
2	1	SimpReg	1	Étalonnage	1	Remplacement	Remplacement	
3	2	SimpReg	1					
4	3	SimpReg	1					
5	4	SimpReg	1					
6	5	SimpReg	1					
7	6	SimpReg	1					

Il existe deux entrées pour le niveau d'étalonnage simple.

- La première ligne d'étalonnage est destinée au même niveau, mais elle calcule la moyenne des paramètres d'étalonnage. L'entrée d'intervalle spécifie que le réétalonnage est effectué tous les trois échantillons.
- La seconde entrée remplace tous les paramètres de réétalonnage. Cela signifie qu'un réétalonnage complet est effectué. Elle n'inclut *aucun* intervalle de réétalonnage.

Table de séquence

La table de séquence comprend sept lignes. La première ligne spécifie l'échantillon de réétalonnage cyclique. La deuxième ligne spécifie le réétalonnage explicite effectué uniquement au début de la séquence. Les lignes 3 à 7 spécifient les échantillons à analyser.

L'ordre des entrées de la table de séquence est très important. Toutes les entrées de flacon de réétalonnage cyclique indiquant un étalonnage cyclique *doivent* apparaître *avant* les entrées d'échantillon ou les entrées de réétalonnage explicite de la méthode.

Ordre d'analyse de SimpReg

Cette section décrit l'ordre d'analyse de la méthode SimpReg.

Tableau 21 Ordre d'analyse de SimpReg

Ligne de séquence	N° d'injection	Method (Méthode)	Flacon	Opération
2	1	SimpReg	1	Etalonnage simple
1	2	SimpReg	1	Etalonnage régulier
3	3	SimpReg	2	Analyse d'échantillon
3	4	SimpReg	3	Analyse d'échantillon
4	5	SimpReg	4	Analyse d'échantillon
5	6	SimpReg	1	Etalonnage régulier
6	7	SimpReg	5	Analyse d'échantillon
7	8	SimpReg	6	Analyse d'échantillon

Séquences d'étalonnage cyclique avec encadrement

Dans une séquence d'étalonnage cyclique avec encadrement, la table d'étalonnage utilisée pour calculer les résultats quantitatifs inconnus est générée en établissant la moyenne des résultats de l'étalonnage en cours avec ceux de l'étalonnage précédent. Cette nouvelle table d'étalonnage donne une représentation plus précise de la réponse de l'instrument au moment de l'analyse de l'échantillon.

Exemple

Considérons la situation suivante :

- La réponse de l'instrument a dérivé.
- Trois injections d'un mélange identique de deux composés sont spécifiées.
- Deux injections sont spécifiées en tant qu'étalons et une injection en tant qu'échantillon.
- Les première et troisième injections sont des étalons.
- La deuxième injection est un échantillon.

Afin d'obtenir un résultat quantitatif précis pour l'injection 2 (l'échantillon), vous devez interpoler les deux étalons (voir la figure). Ce processus est appelé « encadrement ».

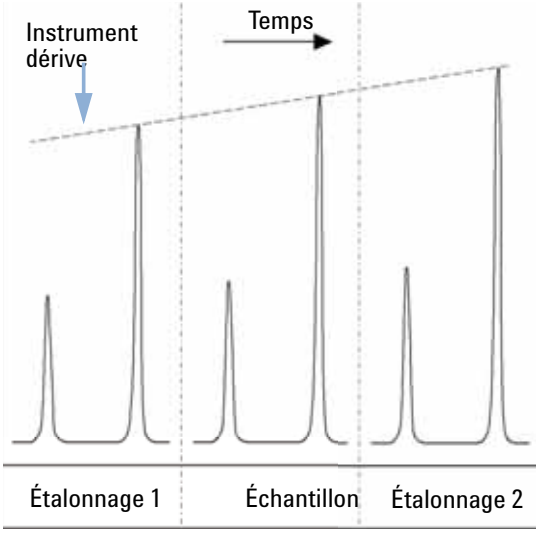


Figure 41 Encadrement

Fonctionnement d'une séquence encadrante

- Les premiers flacons d'étalonnage sont analysés.
- Les flacons d'échantillon sont analysés.
- Les flacons d'étalonnage suivants sont analysés.
- La table d'étalonnage est créée en remplaçant les facteurs de réponse existants par de nouveaux facteurs de réponse et en calculant la moyenne des analyses d'étalonnage suivantes dans une nouvelle table d'étalonnage.
- Les fichiers de données des flacons d'échantillon sont évalués et des rapports générés.
- La séquence revient à l'étape 2 si d'autres flacons d'échantillon doivent être analysés.

Exemple

Cette section décrit un exemple d'encadrement de séquence incluant une méthode, Brack.M. Il s'agit d'une méthode d'étalon interne à deux niveaux qui a recours à l'étalonnage cyclique.

Table de séquence

La table de séquence de Brack.M (page suivante) est abrégée pour simplifier l'exemple. Elle comprend sept lignes. Les deux premières lignes définissent les conditions de réétalonnage pour chaque niveau. Les autres lignes désignent les échantillons à analyser.

Plus particulièrement, la table de séquence de la méthode Brack.M contient les entrées suivantes :

- Une entrée Bracket (Encadrement) dans la colonne Update Response Factor (Mettre à jour le facteur de réponse), qui spécifie l'encadrement d'échantillons avec des étalons.
- Une entrée Replace (Remplacer) dans la colonne Update Retention/Migration Times (Mettre à jour les temps de rétention/migration) qui spécifie le remplacement des temps de rétention/migration.
- La valeur 3 dans la colonne Recalib Interval (Intervalle de réétalonnage) qui spécifie un réétalonnage effectué tous les trois échantillons.

Tableau 22 Table de séquence de BRACK.M

1	1	BRACK.M	2	Étalonnage	1	Bracket (Encadrement)	Remplacement	3
2	2	BRACK.M	2	Étalonnage	2	Bracket (Encadrement)	Remplacement	3
3	10	BRACK.M	1					
4	11	BRACK.M	1					
5	12	BRACK.M	1					
6	13	BRACK.M	1					
7	14	BRACK.M	1					

Ordre d'analyse d'une séquence encadrante

Run No.	Method Name	Vial No.	Inj No.	DataFile Name	Lvl No.	Upd RF	Upd Ret	Operation
1	Brack.M	1	1	c1-03001.d	1	R	R	Report for Calibration Run No.1
2	Brack.M	1	2	c1-03002.d	1	A	R	Report for Calibration Run No.2
3	Brack.M	2	1	c2-03001.d	2	R	R	Report for Calibration Run No.3
4	Brack.M	2	2	c2-03002.d	2	A	R	Report for Calibration Run No.4
								Print Calibration Table
5	Brack.M	10	1	010-0301.d				Sample Analysis, no report
6	Brack.M	11	1	011-0301.d				Sample Analysis, no report
7	Brack.M	12	1	012-0301.d				Sample Analysis, no report
8	Brack.M	1	1	c1-03003.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
9	Brack.M	1	2	c1-03004.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
10	Brack.M	2	1	c2-03003.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report
11	Brack.M	2	2	c2-03004.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report
								Print Calibration Table
				010-0301.d				Report for Sample Run No.5
				011-0301.d				Report for Sample Run No.6
				012-0301.d				Report for Sample Run No.7
				c1-03003.d	1	R		Report for Calibration Run No.8
				c1-03004.d	1	A		Report for Calibration Run No.9
				c2-03003.d	2	R		Report for Calibration Run No.10
				c2-03004.d	2	A		Report for Calibration Run No.11
12	Brack.M	13	1	013-0301.d				Sample Analysis, no report
13	Brack.M	14	1	014-0301.d				Sample Analysis, no report
14	Brack.M	1	1	c1-03005.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
15	Brack.M	1	2	c1-03006.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
16	Brack.M	2	1	c2-03005.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report
17	Brack.M	2	2	c2-03006.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report
								Print Calibration Table
				013-0301.d				Report for Sample Run No.12
				014-0301.d				Report for Sample Run No.13
				c1-03005.d	1	R		Report for Calibration Run No.14
				c1-03006.d	1	A		Report for Calibration Run No.15
				c2-03005.d	2	R		Report for Calibration Run No.16
				c2-03006.d	2	A		Report for Calibration Run No.17

Where A = average
R = replace

Séquences de réétalonnage cyclique utilisant plusieurs flacons qui contiennent la même dilution d'étalon

Séquence de réétalonnage cyclique utilisant des flacons d'étalonnage « à la ronde »

Lorsque vous analysez une séquence volumineuse exécutant des réétalonnages cycliques (réétalonnage automatique effectué après un certain nombre d'injections d'échantillon), le volume du flacon d'équilibrage risque de se vider durant la séquence. La table de séquence ChemStation permet d'utiliser une série de flacons contenant la même dilution d'étalon à utiliser en mode *« à la ronde »*.

Grâce à cette fonction, des séquences volumineuses peuvent être définies avec des réétalonnages automatiques à intervalles fixes et plusieurs flacons d'étalonnage pour chaque niveau. En outre, chaque flacon d'étalonnage est consommé de la même manière.

En définissant un nombre approprié de flacons d'étalonnage, il est même possible de garantir l'utilisation unique de chaque flacon d'étalonnage. C'est là une condition primordiale si un flacon d'étalonnage récent est requis pour chaque réétalonnage, par exemple parce que l'analyte s'évapore une fois le septum perforé ou qu'il commence à se dégrader après avoir été en contact avec l'aiguille métallique. La section suivante explique comment la table de séquence ChemStation doit être configurée pour remplir ces conditions.

Déterminez le nombre total de flacons d'étalonnage pour chaque niveau à partir de l'estimation de l'utilisation des étalons tout au long de la séquence.

Définissez une autre ligne de réétalonnage cyclique pour chaque flacon d'étalonnage. Les lignes définies pour le même niveau d'étalonnage doivent se trouver sur des lignes de séquence adjacentes. Les positions de flacon définies doivent également être adjacentes. Choisissez le même intervalle de réétalonnage pour toutes les lignes. Si, par exemple, votre séquence doit se réétalonner toutes les 6 injections d'échantillon, paramétrez l'intervalle sur 6.

Tableau 23 Séquence de réétalonnage cyclique utilisant 3 flacons définis pour chaque niveau

Numéro de flacon	Nom d'échantillon	Sample Type (Type d'échantillon)	Nom de méthode	Nombre d'injections	Niveau	Upd RT (Mettre à jour le temps de rétention)	Upd RF (Mettre à jour le facteur de réponse)	Interval
1	Eta1a	Etalonnage	Méthode A	1	1	Moyenne	Moyenne	6
2	Eta1b	Etalonnage	Méthode A	1	1	Moyenne	Moyenne	6
3	Eta1c	Etalonnage	Méthode A	1	1	Moyenne	Moyenne	6
5	Eta2a	Etalonnage	Méthode A	1	2	Moyenne	Moyenne	6
6	Eta2b	Etalonnage	Méthode A	1	2	Moyenne	Moyenne	6
7	Eta2c	Etalonnage	Méthode A	1	2	Moyenne	Moyenne	6
10	Echantillon10	Echantillon	Méthode A	6				
11	Echantillon11	Echantillon	Méthode A	6				
12	Echantillon12	Echantillon	Méthode A	6				
13	Echantillon13	Echantillon	Méthode A	6				
14	Echantillon14	Echantillon	Méthode A	6				

L'ordre d'exécution est le suivant :

- Vial 1 (Cal1a) (Flacon 1 – Eta1a)
- Vial 5 (Cal2a) (Flacon 5 – Eta2a)
- 6 injections à partir du flacon 10 (Sample10 – Echantillon10)
- Vial 2 (Cal1b) (Flacon 2 – Eta1b)
- Via 6 (Cal2b) (Flacon 6 – Eta2b)
- 6 injections à partir du flacon 11 (Sample11 – Echantillon11)
- Vial 3 (Cal1c) (Flacon 3- Eta1c)
- Vial 7 (Cal2c) (Flacon 7 – Eta2c)
- 6 injections à partir du flacon 12 (Sample12 – Echantillon12)
- Vial 1 (Cal1a) (Flacon 1 – Eta1a)

- Vial 5 (Cal2a) (Flacon 5 – Eta2a)
- 6 injections à partir du flacon 13 (Sample13 – Echantillon13)
- Vial 2 (Cal1b) (Flacon 2 – Eta1b)
- Vial 6 (Cal2b) (Flacon 6 – Eta2b)
- etc.

Réétalonnages cycliques avec utilisation d'un flacon différent pour chaque étalonnage

Pour garantir l'injection unique de chaque flacon d'échantillon, la séquence doit définir un nombre suffisant de flacons d'échantillon différents, afin que l'ordre « *à la ronde* », décrit dans l'exemple précédent, ne soit pas appliqué. Par exemple, si la séquence traite 80 flacons d'échantillon avec des réétalonnages requis tous les 10 échantillons, la table de séquence doit contenir 80/10 + 1= 9 lignes d'étalonnage pour chaque niveau.

Comme dans l'exemple précédent, les lignes d'étalonnage doivent être des lignes de séquence adjacentes faisant référence à des positions de flacon adjacentes.

Séquence encadrante utilisant des flacons différents pour les encadrements ouvrant et fermant

La même fonction est disponible pour les séquences encadrantes. En définissant la plage appropriée de flacons d'étalonnage, vous pouvez définir une séquence encadrante afin que des flacons d'étalonnage différents puissent servir aux encadrements ouvrant et fermant. Là encore, les lignes d'étalonnage de la séquence doivent être adjacentes, tout comme les positions des flacons d'étalonnage.

L'utilisation éventuelle des flacons d'étalonnage encadrants « à la ronde » ou pour une seule injection dépend simplement du nombre total de flacons d'étalonnage de chaque niveau et du nombre de réétalonnages que requiert la séquence.

L'exemple suivant définit 3 injections d'échantillon encadrées par des étalonnages. Les encadrements ouvrant et fermant utilisent des flacons d'étalonnage différents. Des réétalonnages sont requis après chaque injection d'échantillon. L'intervalle de réétalonnage doit donc être de 1. Le nombre de lignes d'étalonnage par niveau est égal au nombre d'échantillons plus un.

Tableau 24 Flacons différents utilisés pour les encadrements ouvrant et fermant

Numéro de flacon	Nom d'échantillon	Sample Type (Type d'échantillon)	Nom de méthode	Nombre d'injections	Niveau	Upd RT (Mettre à jour le temps de rétention)	Upd RF (Mettre à jour le facteur de réponse)	Interval (Intervalle)
1	Eta1a	Etalonnage	Méthode A	1	1	Encadr.	Encadr.	1
2	Eta1b	Etalonnage	Méthode A	1	1	Encadr.	Encadr.	1
3	Eta1c	Etalonnage	Méthode A	1	1	Encadr.	Encadr.	1
4	Eta1d	Etalonnage	Méthode A	1	1	Encadr.	Encadr.	1
10	Echantillon10	Echantillon	Méthode A	1				
11	Echantillon11	Echantillon	Méthode A	1				
12	Echantillon12	Echantillon	Méthode A	1				

L'ordre d'exécution de la séquence est le suivant :

- Flacon 1 (Eta1a), encadrement ouvrant 1
- Flacon 10 (Echantillon10)
- Flacon 2 (Eta1b), encadrement fermant 1 et encadrement ouvrant 2
- Flacon 11 (Echantillon11)
- Flacon 3 (Eta1c), encadrement fermant 2 et encadrement ouvrant 3
- Flacon 12 (Echantillon12)
- Flacon 4 (Eta1d), encadrement fermant 3

9 Révision, retraitement des données et révision par lot

Table de navigation de la vue Data Analysis (Analyse de données) 218
- Configuration de la table de navigation 218
- Barre d'outils de la table de navigation 220
- Révision des données à l'aide de la table de navigation 221
- Retraitement d'une séquence à l'aide de la table de navigation 222

Définition de la révision par lot 224

Activation de la fonctionnalité de révision par lot avec l'option d'intégration ChemStation OpenLAB 225

Configuration de lot 226
- Table de lots 226
- Table de composés 227
- Rapport de lot 227
- Interface utilisateur 227

Fonctions de révision 229
- Étalonnage dans le cadre de la révision par lot 229

Génération de rapports par lot 230
- Historique de lot 230

Ce chapitre décrit les possibilités de révision des données et de retraitement de données de séquence. Il décrit également les concepts de révision par lot, configuration par lot, fonctions de révision et génération de rapports.

Table de navigation de la vue Data Analysis (Analyse de données)

La vue Data Analysis (Analyse de données) inclut une table de navigation conçue pour faciliter les déplacements parmi les fichiers de données. Cette table affiche les analyses contenues dans le sous-répertoire de données ou de données de séquence sélectionné. Utilisez-la pour charger les différentes analyses ou pour faire défiler automatiquement les acquisitions chargées. Pour plus de détails, consultez le manuel Getting Started With New ChemStation Workflow (Mise en route du nouveau processus ChemStation).

Configuration de la table de navigation

La table de navigation affiche les informations relatives aux fichiers de données, en fonction des ensembles de données disponibles. La table de navigation est en lecture seule et ne peut pas être modifiée.

Tableau 25 Colonnes de la table de navigation

Colonnes des analyses simples	Colonnes des analyses de séquence
Overlay	Overlay (Superposition)
Date / Time (Date / heure)	Ligne
Operator (Opérateur)	Inj (Injection)
Vial (Flacon)	Vial (Flacon)
Data File (Fichier de données)	Sample Name (Nom d'échantillon)
Sample Name (Nom d'échantillon)	Method Name (Nom de méthode)
Method Name (Nom de méthode)	Sample Type (Type d'échantillon)
Manual Events (Événements manuels)	Manual Events (Événements manuels)
Sample Info (Informations sur l'échantillon)	Cal Level (Niveau d'étalonnage)
Quantité d'échantillon	Sample Info (Informations sur l'échantillon)

Tableau 25 Colonnes de la table de navigation

Colonnes des analyses simples	Colonnes des analyses de séquence
ISTD Amount (Quantité ISTD)	Sample Amount (Quantité d'échantillon)
Multiplier (Multiplicateur)	ISTD Amount (Quantité ISTD)
Dilution (Dilution)	Multiplier (Multiplicateur)
---	Dilution (Dilution)
---	Data File (Fichier de données)

La table de navigation comporte des fonctions de configuration de table standard, telles que le tri et le glisser-déplacer pour déplacer des colonnes. Il est également possible de sélectionner les colonnes qui apparaissent dans la table de navigation.

En outre, vous pouvez regrouper les données en fonction d'une colonne : par exemple, il est possible de regrouper les fichiers chargés sur la base de la colonne operator (opérateur) pour afficher les analyses simples effectuées par un opérateur précis.

Plusieurs fonctions de la table de navigation sont accessibles via le bouton droit de la souris : chargement ou superposition d'un signal, exportation de données, impression de rapports, affichage des paramètres de la méthode d'acquisition, etc. Vous pouvez développer chaque ligne de cette table en cliquant sur le signe + (plus) à gauche de la ligne pour configurer les options d'acquisition :

- *Signal :* Liste les acquisitions et permet d'indiquer celles qui doivent être chargées. La sélection de l'affichage des acquisitions s'applique à chaque analyse.
- *General Info (Informations générales) :* Liste les détails d'en-tête concernant l'analyse.
- *Instrument curves (Courbes d'instrument) :*Permet de sélectionner les courbes de données d'instrument à afficher avec le chromatogramme et/ou l'électrophérogramme et sur l'impression.

Barre d'outils de la table de navigation

La table de navigation comporte deux barres d'outils permettant de réviser des données d'analyse simple et/ou de séquence, ou de retraiter des données de séquence.

Outils de révision des données

La fonction de révision de la table de navigation permet de naviguer automatiquement ou manuellement dans les acquisitions chargées. En fonction de l'option sélectionnée dans Preferences/Signal/Review Options (Préférences/Options d'acquisition/révision), le système peut intégrer automatiquement l'acquisition et imprimer un rapport pour chaque fichier lorsqu'il est chargé. La méthode appliquée au fichier de données est indiquée dans le menu supérieur.

Outils de retraitement des séquences

La barre d'outils de retraitement de séquence n'est disponible que lorsqu'une séquence acquise avec ChemStation version B.02.01 ou supérieure est chargée avec le Mode Création de dossiers uniques activé. Il est possible de lancer, d'arrêter ou d'interrompre le retraitement de la séquence. En outre, la barre d'outils permet d'accéder aux boîtes de dialogue suivantes pour modifier les paramètres de retraitement des séquences et d'impression :

- Sequence Table (Table de séquence) (le modèle *.s d'origine se trouve dans le conteneur de données de séquence)
- Boîte de dialogue Sequence Parameters (Paramètres de séquence)
- Boîte de dialogue Sequence Output (Sortie de séquence)
- Boîte de dialogue Sequence Summary Parameters (Paramètres récapitulatifs de séquence)
- Boîte de dialogue Extended Statistic Parameters (Paramètres statistiques étendus)
- Save Current Sequence (Enregistrement de la séquence en cours)
- Print Current Sequence (Impression de la séquence en cours)

Révision des données à l'aide de la table de navigation

Selon le flot de traitement requis, vous pouvez vérifier vos données d'après l'une des méthodes suivantes :

1. Réviser vos données de séquence à l'aide de la méthode utilisée pour chaque fichier de données (données de séquence B.02.01 ou version supérieure) : Utilisez l'option Individual Method from Data File (DA.M) [Méthode individuelle à partir du fichier de données (Da.M)] dans Preferences/Signal/Review Options (Préférences/Options d'acquisition/révision), afin que le système charge la méthode d'analyse de données (DA.M) stockée avec le fichier de données avant de charger les données de séquence. Comme chaque ligne de la table de navigation est appelée lors de la révision des données, la méthode DA.M associée au fichier de données sélectionné est chargée et utilisée pour vérifier et générer le rapport. Le nom de la méthode est visible dans la barre d'état. Le système ajoute DA.M entre parenthèses (DA.M) pour signaler que la méthode chargée correspond au fichier de données.
2. Réviser vos données à l'aide de la méthode de séquence : Utilisez l'option Sequence Method (Méthode de séquence) dans Preferences/Signal/Review Options (Préférences / Options d'acquisition/révision) pour que le système charge la méthode de séquence correspondant à la ligne active de la table de navigation. Cette méthode chargée à chaque chargement d'un fichier de données permet d'effectuer des révisions et de générer des rapports. Le nom de la méthode est visible dans la barre d'état. Le système ajoute "séquence" entre parenthèses (séquence) pour signaler que la méthode chargée représente la méthode de séquence correspondant à la ligne active de la table de navigation.
3. Réviser vos données à l'aide d'une autre méthode : Si vous souhaitez utiliser une autre méthode que la méthode d'analyse de données (DA.M) stockée avec le fichier de données pour réviser des données, vous devez sélectionner l'option Current Method (Méthode active) dans Preferences/Signal/Review Options (Préférences / Options d'acquisition/révision). Dans ce cas, le système utilise la méthode chargée pour réviser les données et générer le rapport. Le nom de la méthode apparaît dans la barre d'état.

REMARQUE

Pour les systèmes LC, CE, LCL/MS et CE/MS, l'option Individual Method from Data File (DA.M) [Méthode individuelle à partir du fichier de données (Da.M)] est sélectionnée par défaut.

Pour les systèmes GC, l'option Current Method (Méthode active) est sélectionnée par défaut.

Retraitement d'une séquence à l'aide de la table de navigation

REMARQUE

Les données de séquence acquises avec ChemStation version B.01.03 (ou une version antérieure) doivent être retraitées à l'aide de l'option correspondante de la vue Method and Run Control (Contrôle de méthode et d'analyse). Cette règle s'applique également aux données acquises dans la version B.03.01 avec le mode Unique Folder Creation (Création de dossiers uniques) désactivé.

Les données de séquence acquises avec la version B.02.01 ou ultérieure du logiciel ChemStation doivent être retraitées à l'aide des outils de retraitement figurant dans la table Data Analysis Navigation (Navigation dans l'analyse de données).

Pour retraiter les données de séquence via la table de navigation de la vue Data Analysis (Analyse de données), tous les fichiers nécessaires sont présents dans le conteneur de données de séquence :

- les fichiers de données de séquence (*.d)
- tous les fichiers de méthodes (*.m) utilisés durant la séquence
- une copie du modèle de séquence d'origine (*.s)
- le fichier de lot de la séquence (*.b)
- le fichier journal de la séquence (*.log)

Au cours du retraitement, les différentes méthodes DA.M des fichiers de données sont mises à jour, ainsi que le fichier de commande (*.b).

Grâce aux fonctions de retraitement Data Analysis (Analyse de données), il est possible de modifier le modèle de séquence (*.s) dans le conteneur de données pour modifier le multiplicateur, la dilution, etc., ou d'utiliser une autre méthode pour le retraitement. Par défaut, le paramètre de retraitement de séquence « part of method to run » (partie de la méthode à analyser) de l'analyse de données est défini sur Reprocessing only (Retraiter uniquement) et l'option Use

Sequence Table Information (Utiliser les informations sur la table de séquence) est sélectionnée. Ces valeurs par défaut permettent de modifier les paramètres du modèle de séquence et d'exécuter un retraitement, sans devoir modifier à nouveau les paramètres de séquence d'analyse des données.

Si vous n'avez pas modifié explicitement la méthode dans le modèle de séquence, le système utilise les méthodes de séquence stockées dans le conteneur de données pour retraiter la séquence. Il s'agit des méthodes initialement utilisées lors de l'acquisition des données. Notez que, même si l'option load DA method from data file (Charger la méthode DA.M à partir du fichier de données) dans Preferences/Signal/Review Options (Préférences / Options d'acquisition/révision) est sélectionnée, le système utilise la méthode du conteneur de séquence pour le retraitement, et non la méthode DA.M des fichiers de données.

Si vous devez modifier certains paramètres de méthode (par exemple, spécifier une impression vers un fichier *.xls), vous devez modifier et enregistrer les méthodes du conteneur de séquence. Ces modifications générales sont ensuite appliquées à tous les fichiers de données pendant le retraitement.

Si vous souhaitez utiliser la méthode du conteneur de séquence mise à jour pour les acquisitions de données ultérieures, vous devez la copier depuis le conteneur de données de séquence vers l'un des chemins de méthode définis. La méthode nouvelle/mise à jour est alors disponible en tant que méthode maîtresse dans la vue des méthodes de l'Explorateur ChemStation.

Définition de la révision par lot

La révision par lot est une fonction d'analyse de données permettant à l'analyste de « faire un premier passage » sur les résultats d'une séquence ou d'une sélection d'analyses en les vérifiant rapidement et facilement. Il gagne ainsi du temps notamment lorsqu'il retraite de grandes quantités d'échantillons. Lorsqu'une séquence est analysée, un fichier de commande (.b) est automatiquement généré et placé dans le répertoire de données avec les fichiers de données. Ce fichier de commande contient des pointeurs vers les fichiers de données de la révision par lot proprement dite. Durant le chargement d'un lot, l'analyste doit uniquement sélectionner la méthode à utiliser pour ce lot, puis choisir les différents fichiers de données à analyser. Il peut vérifier l'exactitude de l'étalonnage, les performances de l'instrument et les intégrations effectuées avant d'approuver les résultats. Les paramètres d'intégration de chromatogramme modifiés peuvent être enregistrés avec le fichier de données afin de garantir la traçabilité des données. Cet environnement interactif donne également accès à toutes les autres fonctions d'analyse de données, telles que la pureté des pics, la recherche en bibliothèque, etc.

La révision par lot utilise les mêmes registres d'analyse de données (ChromReg et ChromRes) que l'analyse de données standard. Par conséquent, cette fonction ne doit pas être utilisée dans une session en ligne en cours d'analyse.

Activation de la fonctionnalité de révision par lot avec l'option d'intégration ChemStation OpenLAB

Lorsque l'option d'intégration ChemStation OpenLAB est installée, la fonction de révision par lot n'est pas disponible par défaut. Afin de pouvoir utiliser la révision par lot, cette fonctionnalité doit être activée par une entrée dans la section [PCS] du fichier .ini Chemstation. Ce fichier se trouve dans le répertoire C:\ WINDOWS.

```
[PCS]

_BatchReview=1
```

L'entrée par défaut, _BatchReview=0, désactive la fonctionnalité.

Configuration de lot

Un lot est un ensemble de fichiers de données sélectionné par l'utilisateur, traité selon une méthode définie par celui-ci. Tous les fichiers de données du lot sont traités via la même méthode. Les étapes de traitement exécutées lorsqu'un nouvel échantillon est chargé pour révision sont sélectionnables (intégration, identification/quantification, création de rapports).

Toutes les analyses d'étalonnage du lot permettent de créer une table d'étalonnage simple à l'aide des moyennes des facteurs de réponse, utilisée ultérieurement en vue de la quantification.

Table de lots

Les analyses sont affichées dans une table de lots que l'utilisateur peut configurer :

- le nombre et le contenu des colonnes de la table peuvent être spécifiés ;
- les analyses peuvent être triées par
  - index d'analyse (ordre dans lequel elles ont été acquises), quels que soient les autres critères,
  - type d'échantillon (échantillons de contrôle, puis étalons et échantillons normaux), puis par index d'analyse dans chaque type d'échantillon,
  - méthode (si plusieurs méthodes ont servi à acquérir les analyses), puis par index d'analyse dans chaque méthode ;
- Les échantillons, les échantillons étalons et les échantillons témoins peuvent être affichés dans la table ou masqués.

Chaque analyse sélectionnée occupe une ligne de la table de lots. Vous pouvez exclure une analyse de la table de lots (par exemple de l'étalonnage) en sélectionnant le type d'échantillon Removed (Supprimé).

Table de composés

Les résultats des composés apparaissent dans une table de composés que l'utilisateur peut configurer, mais le contenu de cette table dépend du type d'échantillon de la table de lots :

- La liste des composés inclut tous les composés trouvés dans la méthode qui a été chargée pour la révision par lot.
- Si la table de lots n'affiche que des étalons (les échantillons et les échantillons de contrôle sont masqués), la table de composés comporte d'autres colonnes d'informations d'étalonnage (quantité attendue, erreur relative et erreur absolue).
- Si la table de lots n'affiche que des analyses de contrôle (les échantillons et les étalons sont masqués), la table de composés comporte d'autres colonnes pour toutes les limites de contrôle définies.

Pour les colonnes contenant des informations de composé, vous pouvez inclure le nom du composé dans le titre de la table en ajoutant %s à la spécification de colonne.

Rapport de lot

Le rapport de lot inclut deux tables généralement semblables aux tables de lots et de composés, que l'utilisateur peut configurer.

Pour les colonnes contenant des informations de composé, vous pouvez inclure le nom du composé dans le titre de la table en ajoutant %s à la spécification de colonne. Les en-têtes multilignes sont autorisés. Vous ajoutez le caractère « | » à l'endroit où vous souhaitez insérer un saut de ligne.

Interface utilisateur

La révision par lot offre deux interfaces utilisateur :

- l'interface standard, qui inclut une barre de boutons proposant la plupart des options du menu Batch (Lot), la table de lots et la table de composés,

- une interface minimale, qui inclut une barre de boutons semblable à l'interface standard, mais où les tables de lots et de composés sont remplacées par une boîte combinée contenant uniquement les informations spécifiées pour la table de lots. La barre de boutons de l'interface minimale ne comporte aucun bouton lié à la table de lots ou à la table de composés.

Fonctions de révision

Il existe deux modes d'affichage des fichiers de données :

- manuellement, en sélectionnant l'analyse à afficher dans la table,
- automatiquement, avec un intervalle prédéfini entre chaque fichier de données. Lors de l'affichage automatique, seuls les types d'échantillon affichés dans la table apparaissent. Les analyses sont affichées dans leur ordre d'apparition dans la table. La révision automatique peut être interrompue et reprise ultérieurement, ou arrêtée.

Les fonctions standard de la ChemStation sont disponibles avec la révision par lot. Elles incluent l'étalonnage, l'utilisation manuelle de chromatogrammes, par exemple par lissage ou intégration manuelle. Les modifications apportées à un fichier de données peuvent être marquées et enregistrées avec le fichier de commande. Les chromatogrammes révisés sont marqués d'un astérisque dans la table de lots. Vous pouvez également annuler les modifications du chromatogramme en cours uniquement ou toutes celles des chromatogrammes du lot.

Lorsqu'une analyse est chargée, les options de traitement sélectionnées sont exécutées. Si l'analyse a déjà été traitée et les modifications enregistrées, cette analyse est chargée. Ce processus est plus rapide que le chargement de l'analyse non traitée, car aucun traitement n'est nécessaire.

Étalonnage dans le cadre de la révision par lot

L'étalonnage dans le cadre de la révision par lot ne dépend pas des paramètres de réétalonnage de la table de séquence. La première étape de l'étalonnage par lot remplace systématiquement les entrées de temps de réponse et de rétention de la table d'étalonnage. Pour les étalons suivants, la moyenne des valeurs de temps de réponse et de rétention est calculée.

Génération de rapports par lot

La « Table de lots », page 226 que l'utilisateur peut configurer peut être imprimée directement, affichée à l'écran ou imprimée dans un fichier avec un préfixe spécifié par l'utilisateur dans l'un des formats suivants :

- Fichier texte UNICODE (.TXT)
- Data Interchange Format (.DIF)
- Valeurs séparées par une virgule (.CSV)
- Microsoft Excel (.XLS)

Les options de création de rapports permettent également de trier les échantillons (par index d'analyse, type d'échantillon ou méthode), quelle que soit la méthode de tri de la table de lots. Les priorités de tri sont celles décrites pour la « Table de lots », page 226.

Historique de lot

La révision par lot met à jour un journal de toutes les opérations liées au lot en cours. Toute opération modifiant le lot (par exemple, modifier le chromatogramme affiché ou le type d'échantillon, charger et enregistrer le lot) ajoute une ligne à l'historique du lot. Cette ligne inclut la date et l'heure, le nom de l'opérateur en cours, ainsi que la description de l'événement.

En outre, vous pouvez ajouter vos propres commentaires à l'historique du lot. Les entrées existantes de l'historique du lot ne peuvent pas être modifiées. La liste des historiques est accessible via l'option de menu Batch History (Historique de lot) uniquement.

10
Utilisation des rapports ChemStation

Qu'est-ce qu'un rapport ? 232
Édition des résultats 233
- Rapports non étalonnés 233
- Rapports étalonnés 233
- Rapport d'étalon externe 233
- Rapport d'étalon interne 234
- Rapport des tableaux 234

Résultats quantitatifs 235
Valeurs de champ personnalisé de génération de rapport 237
Styles de rapport 238
- Ajout d'un rapport personnalisé aux styles de rapport 240

Autres paramètres de style de rapport 241
- Table de sommation des pics 241
- Mise en page de rapport pour pics non étalonnés 241

Destination du rapport 242
- Formats des fichiers de rapport 242

Rapport récapitulatif de séquence 244
- Description générale 244
- Configuration d'un rapport récapitulatif de séquence 244

Ce chapitre décrit la notion de rapport. Il contient des informations concernant les rapports de résultats, les résultats quantitatifs, les styles et la destination des rapports, et les rapports récapitulatifs de séquence.

Qu'est-ce qu'un rapport ?

Un rapport se compose d'informations quantitatives et qualitatives de l'échantillon que vous analysez. Il peut être imprimé sur papier, affiché à l'écran ou disponible sous forme de fichier électronique. Le rapport peut contenir des renseignements sur les pics détectés lors de l'analyse et les tracés des acquisitions.

Édition des résultats

Deux types de rapport sont disponibles :

- un rapport non étalonné qui ne corrige pas la réponse de détecteur et
- un rapport étalonné dont la différence de réponse de détecteur à plusieurs composés de l'échantillon est corrigée.

Rapports non étalonnés

Les rapports non étalonnés incluent les rapports Area% (% aire) et Height% (% hauteur). Ces rapports sont principalement utilisés dans le cadre de la préparation des rapports étalonnés. Ils peuvent faire office de rapport final si les quantités nécessaires pour générer une réponse d'aire ou de hauteur d'unité pour les composés concernés sont similaires.

Rapports étalonnés

Les rapports étalonnés corrigent la différence de réponse de détecteur aux composés rapportés. Un ou plusieurs étalons contenant des quantités connues de composés rapportés doivent être analysés dans les mêmes conditions que l'échantillon inconnu. Les données d'intégration provenant de ces étalons permettent de préparer une table d'étalonnage. Il s'agit d'une liste des temps de rétention/migration, des quantités et des réponses, utilisée dans la génération du rapport. Les rapports étalonnés reposent sur deux procédures d'étalonnage appelées « étalon externe » et « étalon interne ».

Rapport d'étalon externe

Le rapport ESTD répertorie les résultats avec les unités de votre choix ou avec chaque composé comme pourcentage de tous les composés présents. La procédure d'étalon externe exige la connaissance précise du volume injecté relatif

des étalons et des échantillons inconnus. La fiabilité du rapport d'étalon externe est limitée par la reproductibilité de l'injection et d'autres facteurs susceptibles de varier d'un échantillon à l'autre.

Rapport d'étalon interne

La procédure d'étalon interne permet de surmonter les limites de la procédure d'étalon externe. Une quantité connue précise (pas nécessairement la même) de l'étalon interne est ajoutée aux étalons et à l'échantillon inconnu. Le temps de réponse de chaque composé concerné est divisé par le temps de réponse nécessaire à l'étalon interne pour fournir un rapport de réponse. Les courbes d'étalonnage représentent un tracé de ce rapport de réponse et du rapport de quantité. Ces données sont utilisées dans le calcul des résultats rapportés. Ainsi, les erreurs de volume d'injection ou les légères modifications apportées au chromatographe/à l'électrophérogramme et affectant tous les composés de façon similaire sont annulées. Le rapport ISTD répertorie les résultats dans les unités de votre choix.

Rapport des tableaux

Le rapport des tableaux suit un résultat unique de plusieurs analyses pour un composé étalonné précis. La fonction Control Chart (Tableau) est installée une fois la ChemStation opérationnelle. Les méthodes utilisant cette fonction transmettent le résultat suivi à une feuille de calcul Microsoft Excel après chaque analyse. Le tableur Excel est ensuite utilisé pour imprimer le rapport.

Résultats quantitatifs

Le type de rapport est identifié par le nom de la méthode de calcul utilisée pour le préparer (par exemple, un rapport ISTD). Chaque type est décrit brièvement ci-dessous. Les calculs effectués pour chaque rapport sont fournis dans « Résultats quantitatifs », page 235.

Area% fournit le rapport le plus concis et ne requiert aucune donnée d'étalonnage, car la différence de réponse de détecteur des composés d'échantillon n'est pas corrigée. Le rapport Area% (% aire) s'avère particulièrement utile pour développer une table d'étalonnage afin de l'utiliser avec les autres options de rapport. Ce rapport convient aux analyses dans lesquelles la différence de réponse de détecteur des composés n'est pas significative.

Height% fournit un rapport semblable au rapport Area% (% aire), à la différence près que c'est la hauteur et non l'aire du pic qui sert aux calculs.

Norm% fournit un rapport dans lequel chaque composé est rapporté comme pourcentage de tous les composés présents. La réponse du détecteur des pics est corrigée avant le calcul de chaque pourcentage.

ESTD génère un rapport de la quantité réelle de chaque substance dans les unités de votre choix. Les quantités sont calculées par le biais d'une table d'étalonnage créée précédemment. L'utilisation d'un étalon externe exige la connaissance du volume injecté du mélange étalon.

ESTD% génère un rapport de la quantité relative de chaque substance comme pourcentage de l'échantillon injecté. Les quantités sont calculées par le biais d'une table d'étalonnage créée précédemment. L'utilisation d'un étalon externe exige la connaissance du volume injecté du mélange étalon.

ISTD génère un rapport de la quantité réelle de chaque substance. Les quantités sont calculées au moyen d'une courbe d'étalonnage créée précédemment. Grâce à l'utilisation d'un étalon interne dans l'échantillon et le mélange étalon, l'utilisateur n'a pas besoin de connaître ni de contrôler le volume de l'échantillon injecté. Cela corrige également toute variation des performances de l'instrument entre les analyses.

ISTD% génère un rapport de la quantité relative de chaque substance comme pourcentage de l'échantillon injecté. Grâce à l'utilisation d'un étalon interne dans l'échantillon et le mélange étalon, l'utilisateur n'a pas besoin de connaître ni de contrôler le volume de l'échantillon injecté. Cela corrige également toute variation des performances de l'instrument entre les analyses.

Valeurs de champ personnalisé de génération de rapport

Les valeurs des champs personnalisés associés à un échantillon particulier en fonction de sa méthode d'acquisition peuvent être ajoutées au rapport. Les champs personnalisés d'échantillon sont listés à la fin de l'en-tête de rapport qui contient les informations générales d'échantillon. Les champs personnalisés de composé apparaissent à la fin du rapport.

Styles de rapport

Les styles de rapport suivants sont disponibles :

Vous choisissez d'ajouter un signal à l'un des styles de rapport en cochant la case correspondante dans la boîte de dialogue Specify Report (Spécifier le rapport).

- **None** Aucun texte n'est inclus dans le rapport. Le chromatogramme n'est inclus dans le rapport que si l'option Add Chromatogram Output (Ajouter une sortie de chromatogramme) est sélectionnée.
- **Short** - Inclut les résultats quantitatifs de toutes les acquisitions intégrées configurées dans la boîte de dialogue Signal Details (Détails des acquisitions) (LC uniquement) ou Signal (Acquisition) (GC uniquement). La largeur de pic dans le rapport abrégé est calculée à l'aide de la formule la plus complexe utilisée par l'intégrateur : LP = 0,3 (point d'inflexion droit - point d'inflexion gauche) + 0,7(aire/hauteur).
- **Detail** Inclut l'en-tête, les résultats quantitatifs et les courbes d'étalonnage. L'en-tête est stocké dans un fichier, RPTHEAD.TXT, situé dans le répertoire des méthodes. Vous pouvez modifier l'en-tête à l'aide d'un éditeur de texte pour ajouter un texte spécifique pour la méthode.
- **Header + Short** Inclut l'en-tête et les résultats quantitatifs du fichier. L'en-tête est stocké dans un fichier, RPTHEAD.TXT, situé dans le répertoire des méthodes. Vous pouvez modifier l'en-tête à l'aide d'un éditeur de texte pour ajouter un texte spécifique pour la méthode.
- **GLP + Short** Inclut l'en-tête, les informations sur l'échantillon, les conditions de l'instrument, le journal, l'acquisition et les résultats quantitatifs. L'en-tête est stocké dans un fichier, RPTHEAD.TXT, situé dans le répertoire des méthodes. Vous pouvez modifier l'en-tête à l'aide d'un éditeur de texte pour ajouter un texte spécifique pour la méthode.
- **GLP + Detail** Inclut l'en-tête, les informations sur l'échantillon, les conditions de l'instrument, le journal, l'acquisition, les résultats quantitatifs et les courbes d'étalonnage. L'en-tête est stocké dans un fichier, RPTHEAD.TXT, situé dans le répertoire des méthodes. Vous pouvez modifier l'en-tête à l'aide d'un éditeur de texte pour ajouter un texte spécifique pour la méthode.

- **Full** Inclut l'en-tête, les informations sur l'échantillon, les conditions de l'instrument, le journal, les acquisitions et les résultats quantitatifs. L'en-tête est stocké dans un fichier, RPTHEAD.TXT, situé dans le répertoire des méthodes. Vous pouvez modifier l'en-tête à l'aide d'un éditeur de texte pour ajouter un texte spécifique pour la méthode.
- **Performance** Génère un rapport en fonction des limites spécifiées dans la boîte de dialogue Edit Performance Limits (Modifier les limites de performances) du menu System Suitability (Conformité du système).

  Pour les méthodes non étalonnées, les paramètres du rapport incluent le numéro du pic, le temps de rétention/migration, l'aire et la hauteur du pic, la description de l'acquisition, la largeur vraie du pic à mi-hauteur (voir également « Largeur de pic vraie Wx [min.] », page 264), la symétrie, k', l'efficacité (plateaux) et la résolution pour chaque pic.

  Pour les méthodes étalonnées, les paramètres du rapport incluent le numéro du pic, le temps de rétention/migration, le nom du composé, la quantité, la description de l'acquisition, la largeur vraie du pic à mi-hauteur, la symétrie, k', l'efficacité (plateaux) et la résolution pour chaque pic.

  Le calcul du pic à mi-hauteur est différent de la formule de calcul de largeur de pic la plus complexe utilisée par l'intégrateur. Les valeurs d'efficacité et de résolution sont basées sur la largeur de pic calculée. L'en-tête du rapport est constitué de toutes les informations pertinentes pour la méthode, y compris l'instrument, la colonne/capillaire, l'échantillon et les paramètres d'acquisition. Le signal est également tracé.
- **Performance + Noise** Combine le style de rapport Performances avec les calculs des plages de bruits définies dans la boîte de dialogue Edit Noise Range (Modifier une plage de bruits) du menu System Suitability (Conformité du système). En outre, le bruit est calculé comme six fois l'écart type, en tant que bruit crête à crête et bruit ASTM. La dérive et la déviation sont également déterminées.
- **Performance + Extended** Génère un rapport étendu contenant tous les paramètres des calculs de performances de pic et les tracés de chaque pic. Ces tracés incluent la ligne de base, les tangentes, ainsi que les largeurs de pic aux hauteurs définies. Ce type de rapport n'inclut que les pics étalonnés.

  En plus des paramètres imprimés pour le style de rapport Performance (Performances), d'autres paramètres de performances de pic sont déterminés : les temps de début et de fin de pic, l'asymétrie, l'excès, la largeur de pic, le facteur de traîne USP, l'intervalle de temps entre les points de données, le nombre de points de données, les moments statistiques, les plateaux, les plateaux par mètre, la sélectivité et la résolution de chaque pic

sont imprimés. La largeur de pic, les plateaux, les plateaux par mètre, la sélectivité et la résolution sont calculés à l'aide des méthodes vraie à mi-hauteur, de tangente, de traînée et 5 x écart type (pour plus d'informations, voir « Définition des tests de performances », page 262).

L'en-tête du rapport comprend toutes les informations pertinentes pour la méthode, telles que l'instrument, la colonne/le capillaire, l'échantillon et les paramètres d'acquisition et un tracé du signal. Pour une liste complète des algorithmes des paramètres de performances, voir « Définition des tests de performances », page 262.

Les styles de rapport spectral (**Short + Spectrum**, **Detail + Spectrum**, **Performance + Library Search**)) sont décrits dans la section consacrée au *module spectral*.

Ajout d'un rapport personnalisé aux styles de rapport

Vous pouvez ajouter à la liste des styles de rapport disponibles un modèle de rapport personnalisé, créé dans la vue Report Layout (Mise en page de rapport) de ChemStation.

REMARQUE

Tous les rapports, à l'exception des rapports de performances, répertorient les largeurs de pic calculées à l'aide d'une formule plus complexe utilisée par l'intégrateur (pour plus d'informations sur les calculs de largeur de pic, reportez-vous à « Largeur du pic », page 87).

Autres paramètres de style de rapport

Table de sommation des pics

La table de sommation des pics est proposée pour certaines applications de l'industrie pétrochimique et de l'industrie pharmaceutique qui peuvent être améliorées à l'aide des fonctions suivantes :

- Somme des aires des pics qui rentrent dans la plage définie par l'utilisateur
- Somme des aires d'une plage de pics et calculs à l'aide d'un seul multiplicateur
- Somme des aires de tous les pics portant le même nom

Lorsque le rapport est généré, ChemStation utilise la table de sommation des pics pour créer un rapport de sommation des pics imprimé une fois les calculs de rapport standard effectués, à l'exception de Norm% (% norm) qui est remplacé par le rapport de sommation des pics.

Mise en page de rapport pour pics non étalonnés

Pour modifier la mise en page de rapport pour pics non étalonnés, choisissez l'une des options suivantes dans la boîte de dialogue Specify Report (Spécifier le rapport).

- Utilisez l'option Separately (Séparément) pour rapporter les pics non étalonnés dans une table distincte si le tri par temps de rétention/migration est sélectionné, ou dans des tables distinctes si le tri par signal est sélectionné.
- Utilisez l'option With Calibrated Peaks (Pics étalonnés) pour rapporter les pics non étalonnés et les pics étalonnés.
- Utilisez l'option Do Not Report (Ne pas rapporter) pour supprimer le rapport des pics non étalonnés.

Destination du rapport

Voici les destinations possibles des rapports :

- Ecran

  Le rapport (texte et graphiques inclus) s'affiche à l'écran dans la fenêtre de présentation du rapport, à partir de laquelle vous pouvez l'imprimer.

- Imprimante

  Le rapport (texte et graphiques inclus) est imprimé sur l'imprimante sélectionnée.

- Fichier

  Le rapport est enregistré dans un fichier. Si les données sont enregistrées dans un fichier, il est possible de les retraiter à l'aide d'un autre programme, comme Microsoft Windows EXCEL.

Formats des fichiers de rapport

Il existe quatre formats d'enregistrement de rapport. Chaque format a une extension spécifique. Il est possible de sélectionner plusieurs formats pour un même rapport.

.TXT Le texte du rapport est imprimé en tant que fichier texte UNICODE.

.EMF Chaque graphique du rapport (courbe d'étalonnage ou signal) est enregistré dans un métafichier Microsoft Windows (WMF). Un seul rapport peut parfaitement inclure plusieurs fichiers .WMF. Le format de fichier généré est conforme au format de métafichier standard de Microsoft, tel qu'il est défini dans la documentation de développement du logiciel Windows. Ces fichiers sont compatibles avec le format Aldus Placeable Metafile (APM) utilisé par de nombreux progiciels propriétaires.

.DIF Les données de rapport sous forme de tableau sont enregistrées au format Data Interchange Format (DIF). Ce format est compatible avec des tableurs tels que Microsoft Windows EXCEL. Quel que soit le style de rapport sélectionné, seules les informations du style de rapport Short sont enregistrées.

.CSV Dans les rapports avec l'extension CSV (Comma Separated Values), les valeurs sont séparées par une virgule. Ce format très simple permet de représenter des données tabulées et est accepté par la plupart des tableurs et bases de données. Quel que soit le style de rapport sélectionné, seules les informations du style de rapport Short sont enregistrées.

Un même rapport peut contenir plusieurs fichiers .DIF et .CSV. Pour chaque bloc de rapport, le premier fichier, par exemple, REPORT00.CSV, doit contenir les informations d'en-tête. Les fichiers suivants contiennent les résultats tabulés.

Si les résultats sont triés par temps de rétention/migration, un seul fichier est requis pour la table entière, par exemple REPORT01.CSV.

Si les résultats sont triés par signal, une table distincte est alors nécessaire pour chaque signal. Dans ce cas, les fichiers sont nommés Report01.CSV, puis RapportNN.CSV, NN correspondant au numéro du signal.

.XLS Ce rapport est exporté dans une feuille de calcul Microsoft Excel, au format XLS. Les données nécessitent généralement un traitement supplémentaire.

.PDF Le rapport est enregistré dans un fichier .pdf. Pour les rapports .pdf ChemStation utilise une imprimante PDF, appelée "novaPDF Pro Server v5". La licence correspondante pour cette imprimante n'est valide que pour l'impression depuis ChemStation. Si vous souhaitez utiliser cette imprimante depuis d'autres applications, vous devez acheter une licence à cette fin.

Rapport récapitulatif de séquence

Description générale

La ChemStation peut imprimer toute une série de rapports standard pour les analyses d'échantillon individuelles. Le rapport récapitulatif de séquence est un autre moyen de générer un rapport. Il permet de calculer et d'inclure dans un rapport les paramètres de différentes analyses. Il s'avère particulièrement utile, par exemple pour tester la stabilité d'un instrument ou la fiabilité d'une nouvelle méthode.

Un rapport récapitulatif de séquence peut inclure les éléments suivants :

- une page de titre,
- la configuration de l'instrument, y compris ses numéros de version et les détails de la colonne d'analyse/du capillaire utilisés,
- les listes de la table de séquence décrivant la séquence automatisée des analyses qui doit être réalisée,
- les descriptions du journal expliquant les opérations effectuées par la séquence et détaillant les événements inattendus relevés au cours de cette séquence,
- les listes de méthodes,
- des rapports individuels pour chaque échantillon,
- des statistiques sur les analyses, sur la base des critères sélectionnés, sachant que *les statistiques sont calculées pour les composés étalonnés uniquement* et
- une table des matières incluant les numéros de page afin d'accéder facilement aux différentes sections du rapport.

Configuration d'un rapport récapitulatif de séquence

Lors de la configuration d'un rapport récapitulatif de séquence, vous pouvez sélectionner n'importe quelle combinaison des neuf catégories décrites ci-après, en activant les cases à cocher correspondantes et, le cas échéant, en

choisissant un style de rapport parmi les modèles proposés. Chaque modèle spécifie le contenu et la mise en page d'une section précise de l'ensemble du rapport récapitulatif de séquence.

Choisissez l'un des styles de rapport récapitulatif de séquence suivants :

One Page Header (En-tête sur une page)

Le modèle GLP imprime GLP en majuscules sur la page de titre du rapport qui suit. Il inclut également la date et une zone réservée à la signature.

Configuration

Sélectionnez l'option Configuration pour inclure dans votre rapport la configuration de l'instrument et les caractéristiques techniques de la colonne d'analyse/du capillaire.

Table de séquence

Sélectionnez la table Sequence (Séquence) pour inclure dans le rapport la liste des échantillons, des paramètres de quantification d'échantillon et des noms de méthode. Cette liste renseigne sur les analyses que le système est censé effectuer.

Journal

Sélectionnez l'option Logbook (Journal) pour obtenir la liste des analyses effectuées par le système, y compris les conditions d'instrument et tout événement inhabituel survenu au cours de l'analyse des échantillons.

Méthodes

Sélectionnez l'option Methods (Méthodes) pour obtenir la liste des méthodes d'analyse utilisées dans le cadre d'une série d'analyses automatisées.

Analysis Reports (Rapports d'analyse)

Sélectionnez l'option Analysis reports (Rapports d'analyse) pour générer des rapports d'analyse individuels conformes au style de rapport défini pour la méthode.

Vous pouvez imprimer un rapport individuel après chaque analyse, en fonction du style de rapport spécifié pour la méthode concernée, en plus des sections de rapport définies dans le rapport récapitulatif de séquence. Reportez-vous à la section Sequence Output (Sortie de séquence).

SUILabel Type = "Application">Statistics for Calibrated Runs et Statistics for Sample Runs (Statistiques pour les analyses étalonnées et Statistiques pour les analyses d'échantillon)

Sélectionnez l'option Statistics cal. runs (Statistiques pour les analyses étalonnées) pour obtenir une analyse statistique des tendances portant sur les échantillons d'étalonnage. Si vous sélectionnez l'option Statistics sample runs (Statistique pour les analyses d'échantillon), vous obtenez une analyse statistique des tendances portant sur les échantillons inconnus. Ces deux options proposent deux styles de modèle : Standard Statistic (Statistiques standard) et Extended Statistic (Statistiques étendues). L'option Extended Statistic (Statistiques étendues) permet d'imprimer la tendance statistique des analyses sous forme de graphiques, tandis que l'option Standard Statistic (Statistiques standard) présente les résultats sous forme de texte seul. Les sélections effectuées dans la boîte de dialogue Items and Limits for Extended Statistics (Options et limites des statistiques étendues) sont utilisées uniquement lorsque vous choisissez l'option (ou les options) Extended Statistic (Statistiques étendues) dans la boîte de dialogue Sequence Summary Parameters (Paramètres récapitulatifs de séquence).

Si vous sélectionnez l'option (ou les options) Standard Statistic (Statistiques standard) dans la boîte de dialogue Sequence Summary Parameters (Paramètres récapitulatifs de séquence), les statistiques incluses dans le rapport concernent les paramètres suivants :

- temps de rétention/migration,
- aire,
- hauteur,
- quantité,
- largeur de pic (en fonction du style de rapport ; reportez-vous à « Styles de rapport », page 238),
- symétrie.

Les calculs statistiques ne distinguent pas les différents niveaux d'étalonnage au sein d'une séquence faisant appel à des méthodes d'étalonnage multiniveaux. En d'autres termes, les paramètres tributaires du niveau de concentra-

tion, par exemple, l'aire, la hauteur ou la quantité (voir la boîte de dialogue Items and Limits for Extended Statistics – Options et limites des statistiques étendues), sont tous regroupés, quel que soit le niveau d'étalonnage. Les statistiques portant sur les analyses étalonnées n'ont donc aucun intérêt pour les méthodes d'étalonnage multiniveaux dans les séquences.

Summary (Récapitulatif)

L'option Summary (Récapitulatif) permet d'imprimer une vue d'ensemble de la série d'échantillons analysés et des méthodes adoptées. Si l'option Summary (Récapitulatif) est sélectionnée avec d'autres options de récapitulatif de séquence, les numéros de page faisant référence à d'autres sections du rapport récapitulatif de séquence sont inclus. Il existe deux styles de récapitulatif :

Le style Sample Summary (Récapitulatif d'échantillon) présente en tableau les détails relatifs aux analyses d'échantillon effectuées dans la séquence, ainsi que certaines informations d'échantillon, comme le nom de l'échantillon, du fichier de données, la méthode et les numéros de flacon.

Le style Compound Summary (Récapitulatif de composé) présente en tableau les analyses d'échantillon, avec les résultats de quantification de base pour chaque composé étalonné, ou pour chaque pic, en fonction du type de rapport spécifié dans la méthode.

Sequence Output (Sortie de séquence)

Dans la boîte de dialogue Sequence output (Sortie de séquence), vous pouvez également définir la sortie d'impression du rapport récapitulatif de séquence.

Si vous choisissez Report to file (Rapport vers fichier) et indiquez un nom de fichier, le rapport est enregistré dans le fichier spécifié. Par défaut, les données sont enregistrées dans le fichier GLPrprt.txt. Sur les systèmes CPG dotés d'un dispositif à injection double, les données sont enregistrées dans les fichiers GLPrptF.txt et GLPrptB.txt pour l'injecteur avant et l'injecteur arrière, respectivement.

Si vous sélectionnez Report to printer (Rapport vers imprimante), le rapport est envoyé à l'imprimante système. L'impression des rapports propres à chaque analyse entraîne également l'impression des rapports d'échantillon après chaque analyse. Ces rapports sont imprimés en plus de ceux spécifiés pour le rapport récapitulatif de séquence, générés au terme de la séquence complète.

Vous pouvez indiquer une nouvelle destination pour ces rapports dans la boîte de dialogue Sequence Output (Sortie de séquence) ou utiliser la destination spécifiée dans les méthodes individuelles.

11
Evaluation de l'aptitude du système

Définition du bruit 253
- Calcul du bruit selon le principe 6 x écart type 253
- Calcul du bruit à l'aide de la formule crête à crête 254
- Calcul du bruit par la méthode ASTM 255
- Calcul du rapport signal/bruit 257
- Dérive et déviation 257

Calcul de la symétrie des pics 258

Calculs et formules d'aptitude système 260

Définitions générales 261
- Volume mort 261
- Temps de rétention de composé non retenu t (m) [min] 261

Définition des tests de performances 262
- Moments statistiques 262
- Moments statistiques, obliquité et excès 263
- Largeur de pic vraie Wx [min.] 264
- Facteur de capacité (USP), rapport de capacité (ASTM) k' 264
- Facteur de traîne USP (USP) t 264
- Nombre de plateaux théoriques par colonne (USP, ASTM) n 265
- Nombre de plateaux théoriques par mètre N [1/m] 266
- Rétention relative (USP, ASTM), sélectivité alpha 266
- Résolution (USP, ASTM) R 267

Définitions de la reproductibilité 268
- Moyenne d'échantillon M 268
- Ecart type d'échantillon S 268
- Ecarttype relatif ETR [%] (USP) 269
- Ecart type de la moyenne SM 269
- Intervalle de confiance IC 270
- Analyse de régression 271

Coefficient de régression 271
Ecart type (S) 272
Accès au nombre en double précision stocké en interne 273

Ce chapitre décrit les fonctions de ChemStation permettant d'évaluer les performances de l'instrument d'analyse, avant son utilisation pour les analyses d'échantillon, et de la méthode d'analyse avant son fonctionnement dans des conditions standard. Il décrit également la vérification des performances d'analyse avant et pendant les analyses de routine.

L'évaluation des performances de l'instrument analytique avant utilisation dans le cadre de l'analyse d'échantillon, ainsi que l'évaluation des performances de la méthode analytique avant qu'elle ne soit exploitée de manière routinière, font partie des bonnes pratiques analytiques à adopter. La vérification des performances du système d'analyse avant, pendant et après les analyses de routine est une démarche pertinente. Le logiciel ChemStation comporte des fonctionnalités permettant de réaliser automatiquement ces trois types de test. Un test d'instrument peut porter sur la sensibilité du détecteur, sur la précision des temps de rétention/migration de pic et sur la précision des aires de pic. Un test de méthode peut vérifier la précision des quantités et des temps de rétention/migration, la sélectivité et la robustesse de la méthode en terme de variance quotidienne. Un test du système peut porter sur la précision des quantités, la résolution entre deux pics spécifiques et la traînée de pic.

Il est recommandé aux laboratoires qui doivent se conformer aux règlementations suivantes :

- Bonnes pratiques de laboratoire (BPL),
- Bonnes pratiques de fabrication (BPF) et bonnes pratiques de fabrication appliquées aux Etats-Unis (Current Good Manufacturing Practice regulations : cGMP), et
- Bonnes pratiques d'automatisation de laboratoire (GALP),

d'effectuer ces tests et de documenter les résultats de manière détaillée. Les laboratoires participant à un système de contrôle de la qualité, par exemple, dans le cadre de la norme ISO9000, doivent apporter la preuve des bonnes performances de leurs instruments.

ChemStation rassemble des résultats générés par différentes analyses qui sont ensuite statistiquement évalués dans le rapport récapitulatif de séquence.

Les essais sont documentés dans un format qui est généralement accepté par les autorités réglementaires et par les vérificateurs indépendants. Ces statistiques portent sur les données suivantes :

- temps de rétention/migration de pic,
- aire de pic,
- quantité,
- hauteur de pic,
- largeur de pic à mi-hauteur,
- symétrie de pic,
- traînée de pic,
- facteur de capacité (k´),
- nombre de plateaux,
- résolution entre pics,
- sélectivité par rapport au pic précédent,
- asymétrie, et
- excès.

La valeur moyenne, l'écart type, l'écart type relatif et l'intervalle de confiance sont des valeurs calculées. Vous pouvez définir des limites d'écart type, d'écart type relatif ou d'intervalle de confiance pour chacun de ces paramètres. Si les valeurs sont supérieures aux limites que vous avez définies, le rapport est alors marqué afin d'attirer votre attention.

La qualité des données analytiques peut être prouvée en conservant des enregistrements des conditions réelles au moment des mesures. Le fichier journal de ChemStation enregistre les conditions avant et après toute analyse. Ces informations sont stockées avec les données et présentées dans un rapport avec les données d'échantillon. Les courbes de performance de l'instrument sont enregistrées pendant toute l'analyse sous forme de signaux. Elles sont ensuite stockées dans le fichier de données. Si l'instrument le permet, ces enregistrements, superposés sur le chromatogramme, peuvent être rappelés à la demande, par exemple lors d'un audit.

La dérive et le bruit de la ligne de base peuvent être mesurés automatiquement. Un niveau de détection minimum peut être calculé à partir des données de la hauteur de pic pour chaque composé étalonné dans la méthode.

Enfin, vous pouvez ajouter la configuration de l'instrument, le numéro de série des instruments, l'identification de colonne/capillaire et vos commentaires dans chaque rapport imprimé.

Les résultats des performances étendues sont calculés uniquement pour les composés étalonnés dans la méthode, afin d'assurer la caractérisation par le temps de rétention/migration et les noms de composé.

Un rapport type de test des performances du système comprend les résultats suivants :

- informations relatives à l'instrument,
- détails sur la colonne/le capillaire,
- méthode analytique,
- informations sur l'échantillon,
- informations sur l'acquisition,
- description du signal et détermination du bruit de la ligne de base, et
- signal étiqueté avec des temps de rétention/migration ou des noms de composé.

En outre, les informations suivantes sont générées pour chaque composé étalonné dans le chromatogramme :

- temps de rétention/migration,
- k´,
- symétrie,
- largeur de pic,
- nombre de plateaux,
- résolution,
- rapport signal/bruit, et
- nom du composé.

Définition du bruit

Le bruit peut être défini à partir des valeurs de points de données sur une plage de temps sélectionnée d'un signal. Il existe trois modes de traitement du bruit :

- selon le principe de l'écart type (sd) x 6 de la régression linéaire de la dérive,
- selon le principe de crête à crête (correction de la dérive) et
- selon la méthode ASTM (ASTM E 685-93).

Il est possible de calculer le bruit pour sept plages du signal au maximum. Les plages sont définies via les paramètres d'aptitude système des options de rapport.

Calcul du bruit selon le principe 6 x écart type

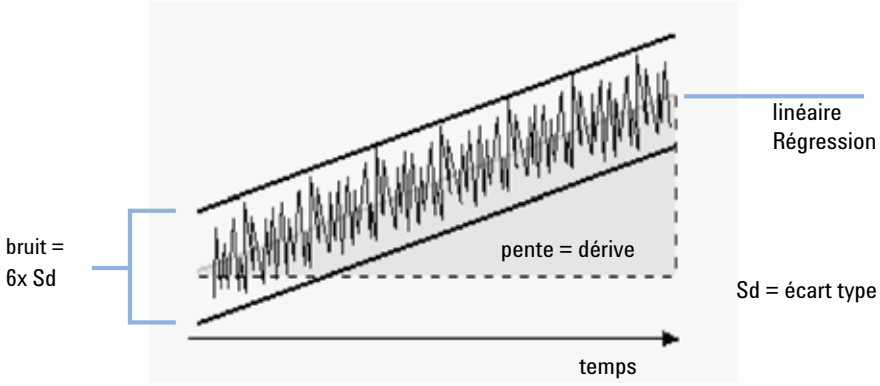


Figure 42 Bruit calculé par 6 x l'écart type

La régression linéaire est calculée à partir de tous les points de données dans une plage de temps donnée (voir « Analyse de régression », page 271). Le bruit est défini par la formule suivante :

$N = 6 \, x \, Std$

où

N est le bruit basé sur la méthode 6 x écart type, et

Std est l'écart type de la régression linéaire de tous les points de données dans l'intervalle de temps.

Calcul du bruit à l'aide de la formule crête à crête

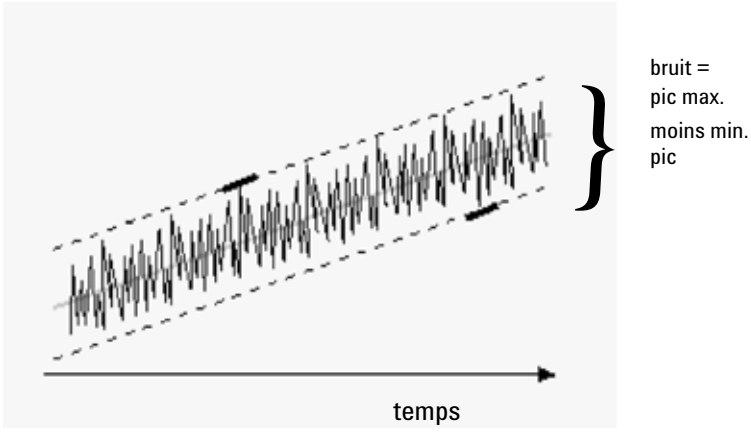


Figure 43 Bruit calculé par la distance entre la crête maximale et la crête minimale

Pour calculer la dérive, il convient d'abord de déterminer la régression linéaire à partir de tous les points de données dans la plage de temps (voir la section « Analyse de régression », page 271). La droite de régression linéaire est soustraite de tous les points de données de l'intervalle de temps afin d'obtenir un signal corrigé en fonction de la dérive. Le bruit crête à crête est ensuite calculé grâce à cette formule :

$N = I_{max} - I_{min}$

où

N est le bruit crête à crête,

I_{max} est le pic d'intensité maximale et

I_{min} est le pic d'intensité minimale dans l'intervalle de temps.

Calcul du bruit par la méthode ASTM

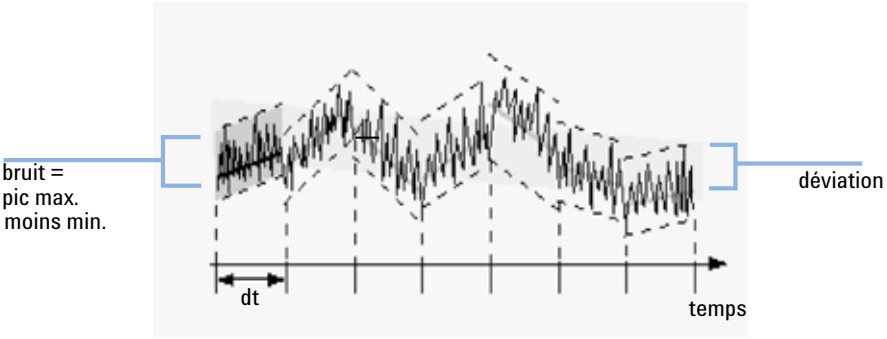


Figure 44 Définition du bruit à l'aide de la méthode ASTM

La méthode de calcul du bruit ASTM (ASTM E 685-93) repose sur la pratique standard de test de détecteurs photométriques à longueur d'onde variable utilisés en chromatographie liquide, conformément aux directives de l'American Society for Testing and Materials (ASTM). En fonction de la taille de l'intervalle de temps, on distingue trois types de bruit. La détermination du bruit repose sur la mesure crête à crête dans des plages de temps définies.

Durée de cycle, t

Bruit à long terme : amplitude maximale de toutes les variations aléatoires de signal du détecteur, aux fréquences comprises entre 6 et 60 cycles par heure. Le bruit est défini comme étant à long terme lorsque la plage de temps sélectionnée dépasse une heure. La plage de temps de chaque cycle (dt) est de 10 minutes, ce qui correspond à six cycles au moins dans la plage de temps sélectionnée.

Bruit à court terme : amplitude maximale de toutes les variations aléatoires de signal du détecteur d'une fréquence supérieure à un cycle par minute. Le bruit est défini comme étant à court terme lorsque la plage de temps sélectionnée est comprise entre 10 et 60 minutes. La plage de temps de chaque cycle (dt) est d'une minute, ce qui correspond à dix cycles au moins dans la plage de temps sélectionnée.

Bruit à très court terme (ne fait pas partie de la norme ASTM E 685-93) : cette notion est introduite afin de décrire l'amplitude maximale de toutes les variations aléatoires de signal du détecteur d'une fréquence supérieure à un cycle par 0,1 minute.

Le bruit est défini comme étant à très court terme lorsque la plage de temps sélectionnée est comprise entre 1 et 10 minutes. La plage de temps de chaque cycle (dt) est de 0,1 minute, ce qui correspond à dix cycles au moins dans la plage de temps sélectionnée.

Détermination du nombre de cycles, n

$$n = \frac{t_{tot}}{t}$$

où t est le temps de cycle et t_{tot} la durée totale pendant laquelle le bruit est calculé.

Calcul du bruit crête à crête dans chaque cycle

Pour calculer la dérive, il convient d'abord de déterminer la régression linéaire à partir de tous les points de données dans la plage de temps (voir la section « Analyse de régression », page 271). La droite de régression linéaire est soustraite de tous les points de données de l'intervalle de temps afin d'obtenir un signal corrigé en fonction de la dérive. Le bruit crête à crête est ensuite calculé grâce à cette formule :

$$N = \frac{I_{max}}{I_{min}}$$

où N est le bruit crête à crête, I_{max} le pic d'intensité maximale et I_{min}, le pic d'intensité minimale dans la plage de temps.

Calcul du bruit ASTM

$$N_{ASTM} = \frac{\sum_{i=1}^{n} N}{n}$$

où N_{ASTM} est le bruit calculé selon la méthode ASTM.

La détermination ASTM du bruit n'est pas effectuée si la plage de temps sélectionnée est inférieure à une minute. En fonction de la plage, si la plage de temps sélectionnée est supérieure ou égale à une minute, le bruit est défini

selon l'une des méthodes ASTM décrites précédemment. Le calcul prend en compte au moins sept points de données par cycle. Dans la détermination automatisée du bruit les cycles se chevauchent de 10 %.

Calcul du rapport signal/bruit

Dans le cadre de la définition du rapport signal/bruit, la ChemStation utilise le principe de l'écart type (sd) x 6 de la régression linéaire de la dérive pour calculer le bruit. La plage la plus proche du pic est sélectionnée à partir des plages spécifiées dans les paramètres d'aptitude système. Le rapport signal/bruit est calculé selon cette formule :

$$\text{Signal-to-Noise} = \frac{\text{Height of the peak}}{\text{Noise of closest range}}$$

Le rapport signal/bruit est calculé pour chaque pic du signal. Si la ChemStation ne parvient pas à trouver la valeur d'un bruit, le rapport signal/bruit correspondant est représenté par un tiret (-).

Dérive et déviation

La dérive est la valeur de la pente de régression linéaire (figure Bruit calculé comme l'écart type x 6) et la déviation est définie comme le bruit crête à crête des valeurs moyennes dans les cycles de bruit ASTM (voir Définition du bruit à l'aide de la méthode ASTM).

Calcul de la symétrie des pics

ChemStation ne définit pas le rapport d'asymétrie d'un pic, que l'on obtient en général en comparant les largeurs à mi-hauteur de pic à 10 % de la hauteur de pic (ou à 5 % d'après les recommandations de la FDA).

L'intégrateur calcule la symétrie des pics comme un pseudo-moment, à l'aide des équations de moment suivantes :

$$m_1 = a_1\left(t_2 + \frac{a_1}{1.5H_f}\right)$$

$$m_2 = \frac{a_2^2}{0.5H_f + 1.5H}$$

$$m_3 = \frac{a_3^2}{0.5H_r + 1.5H}$$

$$m_4 = a_4\left(t_3 + \frac{a_4}{1.5H_r}\right)$$

$$\text{Peak symmetry} = \sqrt{\frac{m_1 + m_2}{m_3 + m_4}}$$

Si aucun point d'inflexion n'est détecté ou si un seul point d'inflexion est observé, la symétrie des pics est calculée comme suit :

$$\text{Peak symmetry} = \frac{a_1 + a_2}{a_3 + a_4}$$

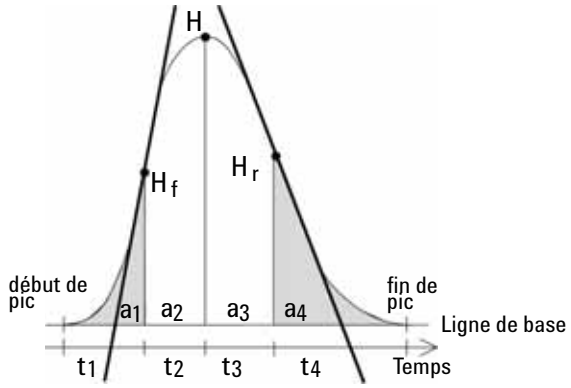


Figure 45 Calcul du facteur de symétrie de pic

où :

a_i = aire de la section

t_i = temps de la section

H_f = hauteur du point d'inflexion avant

H_r = hauteur du point d'inflexion arrière

H = hauteur au sommet

Calculs et formules d'aptitude système

La ChemStation utilise les formules suivantes pour générer les résultats des différents tests d'aptitude système. Les résultats sont ensuite intégrés dans un rapport qui adopte les styles Performance (Performances), Performance + Noise (Performances + Bruit) et Performance + Extended (Performances + Etendu).

Si une norme ASTM ou USP est spécifiée pour une définition donnée, celle-ci doit se conformer à la référence correspondante. Toutefois, les symboles utilisés ici ne sont peut-être pas identiques à ceux adoptés dans la référence.

Les deux références utilisées dans ce contexte sont :

- *ASTM: Section E 682 – 93, Annual Book of ASTM Standards, Vol.14.01*
- *USP: The United States Pharmacopeia (la pharmacopée américaine), XX. Revision, pp. 943 - 946*

Définitions générales

Volume mort

$$V = d^2 \pi l / (f / 4)$$

où :

d = diamètre de colonne [cm]

π = constante, rapport circonférence/diamètre d'un cercle

l = longueur de colonne [cm]

f = fraction du volume de colonne qui n'est pas prise en compte lors de la phase stationnaire, mais disponible pour la phase mobile. Valeur par défaut de f = 0,68 (pour Hypersil)

Temps de rétention de composé non retenu t (m) [min]

(Egalement appelé temps mort ou temps de volume mort)

$$T_m = V / F$$

où :

F = débit de CPL [ml/min]

Définition des tests de performances

Moments statistiques

$$M0 = d_t \cdot X$$

$$M1 = t_0 + d_t \cdot \frac{X}{Y}$$

$$M2 = \frac{d_t^2}{X} \cdot \sum_{i=1}^{N} \left(\left(i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^2 \cdot A_i \right)$$

$$M3 = \frac{d_t^3}{X} \cdot \sum_{i=1}^{N} \left(\left(i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^3 \cdot A_i \right)$$

$$M4 = \frac{d_t^4}{X} \cdot \sum_{i=1}^{N} \left(\left(i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^4 \cdot A_i \right)$$

où :

N	Nombre de sections d'aire
A_i	Valeur de la section d'aire indexée par i
d_t	Intervalle entre les sections d'aire adjacentes
t_0	Temps de la première section d'aire
$\sum_{i=1}^{N}$	Somme de l'index de départ 1 à l'index final N (observations discrètes)

$$X = \sum_{i=1}^{N} (A_i)$$

$$Y = \sum_{i=1}^{N} ((i-1)A_i)$$

Moments statistiques, obliquité et excès

Le calcul des moments statistiques est une solution de remplacement pour décrire les formes de pic asymétriques. Il existe un nombre infini de moments de pic, mais seuls les cinq premiers sont utilisés dans le cadre des calculs de pics chromatographiques. Ils sont intitulés **Moment0**, **Moment1**, ... **Moment4**.

Le **Moment0** représente l'aire du pic.

Le **Moment1** est le temps de rétention moyen, ou le temps de rétention mesuré au niveau du centre de gravité du pic. Il diffère du temps de rétention chromatographique mesuré au niveau maximal du pic, sauf si le pic est symétrique.

Le moment 2 est la variance de pic, une mesure de la dispersion latérale. Il s'agit de la somme de la variance générée par différents éléments du système d'instrument.

Le **Moment3** décrit la symétrie verticale ou obliquité. Il s'agit de la mesure du départ de la forme de pic à partir du modèle gaussien. L'obliquité définie dans le rapport Performance & Extended (Performances + Etendu) constitue sa forme adimensionnelle. Un pic symétrique présente une valeur d'obliquité égale à zéro. Les pics de traînée présentent une obliquité positive et leur moment 1 est supérieur au temps de rétention. Les pics de front diffus présentent une obliquité négative et leur moment 1 est inférieur au temps de rétention.

Le **Moment4** (également appelé excès) mesure la compression ou l'étirement du pic le long d'un axe vertical, par rapport à un étalon gaussien dont le moment 4 est égal à zéro. Il est possible de le visualiser en déplaçant ou en séparant les côtés du pic gaussien tout en maintenant une aire constante. Si le pic apparaît comprimé ou écrasé, son excès est négatif. Dans le cas contraire, son excès est positif. En outre, l'excès est défini dans le rapport Performance & Extended (Performances + Etendu), sous sa forme adimensionnelle.

Largeur de pic vraie W_x [min.]

$$W_x = \text{width of peak at height x \% of total height}$$

W_B	largeur de base, 4 x écart type, obtenue en croisant les tangentielles aux points d'inflexion avec la ligne de base (largeur de pic tangentielle)
$W_{4.4}$	largeur à 4,4 % de la hauteur (largeur 5 x écart type)
$W_{5.0}$	largeur à 5 % de hauteur (largeur de pic de traînée), utilisée pour calculer le facteur de traîne USP
$W_{50.0}$	largeur à 50 % de hauteur (largeur de pic réelle à mi-hauteur ou 2,35 x écart type).

Facteur de capacité (USP), rapport de capacité (ASTM) k'

$$k' = \frac{T_R - T_0}{T_0}$$

où :

T_R = temps de rétention du pic [min]

T_0 = temps de volume mort [min]

Facteur de traîne USP (USP) t

$$t = \frac{W_{5.0}}{t_w \cdot 2}$$

où :

t_w = distance (en min.) entre le front de pic et TR, mesurée à 5 % de la hauteur du pic

$W_{5,0}$ = largeur de pic à 5% de la hauteur de pic [min.]

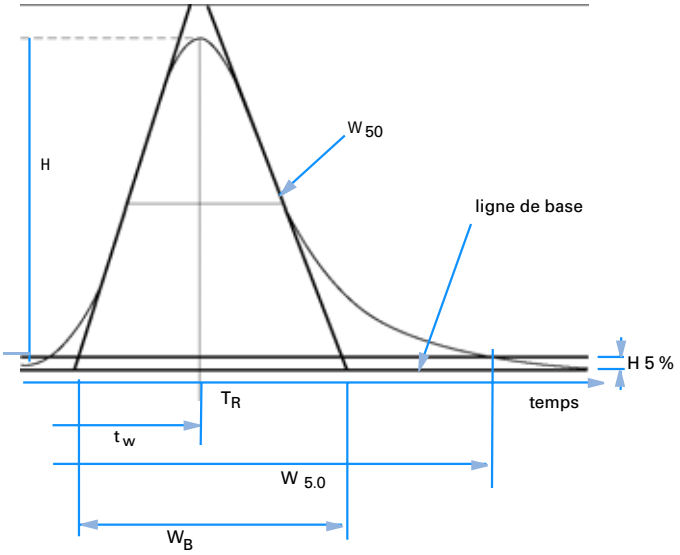


Figure 46 Paramètres de performance

Nombre de plateaux théoriques par colonne (USP, ASTM) n

Méthode tangentielle (USP, ASTM) :

$$n = 16\left(\frac{T_R}{W_B}\right)^2$$

où :

W_B = largeur de base [min.]

Méthode de largeur mi-hauteur (ASTM) :

$$n = 5.54\left(\frac{T_R}{W_{50}}\right)^2$$

où :

W_{50} = largeur de pic à mi-hauteur [min.]

Méthode 5 x écart type :

$$n = 25\left(\frac{T_R}{W_{4.4}}\right)^2$$

où :

$W_{4.4}$ = largeur de pic à 4,4% de la hauteur de pic [min.]

Méthode de variance :

$$n = \frac{M1^2}{M2}$$

où :

Mx = moment statistique x^{th} (voir également « Moments statistiques », page 262)

Nombre de plateaux théoriques par mètre N [1/m]

$$N = 100 \times \frac{n}{l}$$

où :

n = nombre de plateaux théoriques

l = longueur de colonne [cm]

Rétention relative (USP, ASTM), sélectivité alpha

(Concernant les pics a et b, T_R du pic a < T_R du pic b)

$$\text{alpha} = \frac{k'_{(b)}}{k'_{(a)}}, \text{alpha} \geq 1$$

où :

$k'_{(x)}$ = facteur de capacité du pic x

Résolution (USP, ASTM) R

(Concernant les pics a et b, T_R du pic a < T_R du pic b ; T_R en min.)

Méthode tangentielle (USP, ASTM) :

$$R = \frac{2(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{B(b)} + W_{B(a)}}$$

Méthode Sigma 5 :

$$R = \frac{2.5(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{4.4(b)} + W_{4.4(a)}}$$

Méthode à mi-largeur (Résolution adoptée dans le rapport de performances) :

$$R = \frac{(2.35/2)(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{50(b)} + W_{50(a)}}$$

Méthode statistique :

$$R = \frac{M1_{(b)} - M1_{(a)}}{W_{S(b)} + W_{S(a)}}$$

où :

$M1_{(x)}$ = temps de rétention moyen pour le pic x (1er moment statistique) [min.]

$W_{B(x)}$ = largeur de base du pic x [min.]

$W_{4,4(x)}$ = largeur à 4,4% de la hauteur du pic x [min.]

$W_{50(x)}$ = largeur à 50% de la hauteur du pic x [min.]

$W_S(x)$ = largeur dérivée des moments statistiques = du pik x [min] (voir aussi « Moments statistiques », page 262)

Définitions de la reproductibilité

Dans le cadre de la révision statistique des données analytiques en matière de reproductibilité, la séquence s'apparente à un petit échantillon aléatoire prélevé dans un nombre infini de résultats expérimentaux. Le traitement d'un ensemble complet de résultats requiert une quantité de matériel d'échantillon illimitée, ainsi que du temps. Les données strictement statistiques ne s'appliquent qu'à un jeu ou à une population de données complet et autonome. Dès lors, un tel traitement doit reposer sur le postulat que l'échantillon sélectionné est bien représentatif de toutes les données.

Moyenne d'échantillon M

La valeur moyenne M d'un échantillon aléatoire constitué de N mesures est calculée à partir de cet ensemble limité de N valeurs uniques X_i, indexé à l'aide d'un compteur consécutif i sur la base de cette formule :

$$M = \frac{\sum_{i=1}^{N} X_i}{N}$$

où :

N =nombres d'observations discrètes

X_i = valeur des observations discrètes indexées par i

Ecart type d'échantillon S

Prenons un échantillon aléatoire de taille N. L'écart type S de l'échantillon de taille finie sélectionné et extrait de la population globale de données, est déterminé par :

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N} (X_i - M)^2}{N - 1}}$$

Deux points différencient l'écart type d'échantillon S de l'écart type pour la totalité de la population s :

- à la place de la valeur moyenne réelle, seule la valeur moyenne d'échantillon M est utilisée, et
- la division s'effectue par N-1, à la place de N.

Ecarttype relatif ETR [%] (USP)

L'écart type relatif se définit comme

$$RSD = 100\frac{S}{M}$$

Ecart type de la moyenne S_M

Prenons M en tant que moyenne d'échantillon et S en tant qu'écart type de l'échantillon [ou (N-1)]. L'écart type S_M de la moyenne d'échantillon M est défini par

$$S_M = \frac{S}{\sqrt{N}}$$

Prenons un exemple afin d'illustrer notre propos :

Bien que le temps de rétention d'un composé donné puisse parfois s'écarter légèrement de la valeur moyenne calculée au cours d'une séquence, les données émanant d'une autre séquence présentent des écarts bien plus notables, notamment en raison des modifications de la température ambiante ou de la dégradation du matériel de la colonne au cours du temps. Pour déterminer cet écart, l'écart type de la moyenne d'échantillon S_M est calculé sur la base de la formule ci-dessus.

Intervalle de confiance IC

L'intervalle de confiance donne des informations sur le niveau de pertinence de l'estimation d'une valeur moyenne lorsqu'elle est appliquée à l'ensemble de la population et non plus à un échantillon uniquement.

L'intervalle de confiance 100 × (1 - α(%) de la moyenne générale est donné par la formule

$$CI = t_{(\alpha/2);N-1} \cdot S_M$$

où :

$$t_{(\alpha/2);N-1}$$

est le point de pourcentage de la table de distribution t à une probabilité de risque de α)

Pour les statistiques développées dans le cadre du récapitulatif de séquence, il convient d'utiliser un intervalle de confiance de 95 % (α = 0,05).

La distribution t (ou « distribution de Student ») doit être adoptée pour les petits volumes d'échantillon. En cas de volumes d'échantillon importants, les résultats de la distribution t ou de la distribution normale (gaussienne) ne présentent plus aucune différence. Par conséquent, pour 30 échantillons ou plus, vous pouvez opter pour la distribution normale (il est particulièrement difficile de calculer la distribution t lorsque le nombre d'échantillons est élevé, la distribution normale donne donc la meilleure approximation).

Intervalle de confiance 95 % pour 6 échantillons :

1 - α = 0.95

N = 6

La valeur correcte de t doit être dérivée de la table de distribution t pour 5 (N-1) degrés de liberté et pour la valeur α/2 étant 0,025. On obtient alors la formule de calcul suivante pour l'IC :

$$CI = 2.571 \cdot \frac{1}{\sqrt{6}} \cdot S_M$$

Analyse de régression

Supposons que :

Fonction linéaire :

$$y_{(X)} = a + bX$$

Coefficients :

$$a = \frac{1}{\Delta_X}\left(\sum_{i=1}^{N} X_i^2 \cdot \sum_{i=1}^{N} Y_i - \left(\sum_{i=1}^{N} X_i \cdot \sum_{i=1}^{N} X_i Y_i\right)\right)$$

$$b = \frac{1}{\Delta_X}\left(N \cdot \sum_{i=1}^{N} X_i Y_i - \left(\sum_{i=1}^{N} X_i \cdot \sum_{i=1}^{N} Y_i\right)\right)$$

où :

$$\Delta_X = N \cdot \sum_{i=1}^{N} X_i^2 - \left(\sum_{i=1}^{N} X_i\right)^2$$

Coefficient de régression

$$r = \frac{\left(N \cdot \sum_{i=1}^{N} X_i Y_i - \sum_{i=1}^{N} X_i \cdot \sum_{i=1}^{N} Y_i\right)}{\sqrt{\Delta_x \cdot \Delta_y}}$$

où :

$$\Delta_Y = N \cdot \sum_{i=1}^{N} Y_i^2 - \left(\sum_{i=1}^{N} Y_i\right)^2$$

Ecart type (S)

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N} [Y_i - a - bX_i]^2}{N-2}}$$

Accès au nombre en double précision stocké en interne

A des fins de validation, il est parfois nécessaire de recalculer manuellement les résultats de la ChemStation, notamment les courbes d'étalonnage, les coefficients de corrélation et les plateaux théoriques. Lors d'une telle opération, le format de nombre utilisé par la ChemStation doit être respecté.

Pour tous les nombres stockés en interne au sein de la ChemStation, on utilise comme type de données du language « C » le type DOUBLE. Cela signifie que 14 chiffres significatifs sont enregistrés pour chaque nombre. L'implémentation de ces types de données est conforme à l'implémentation Microsoft de la norme IEEE relative aux données du langage « C » et aux règles connexes en matière d'arrondi (pour plus d'informations, reportez-vous aux documents Microsoft Q42980, Q145889 et Q125056).

En raison du nombre illimité de paramètres susceptibles d'être utilisés pour le calcul de la table d'étalonnage, il est impossible de déterminer l'erreur exacte éventuellement introduite par la propagation et l'accumulation des erreurs d'arrondi. Toutefois des analyses poussées à l'aide de différentes constructions de courbe d'étalonnage ont démontré que l'exactitude était garantie jusqu'à 10 chiffres. Alors que la reproductibilité de l'aire, de la hauteur et du temps de rétention d'une analyse chromatographique présentait en général 3 chiffres significatifs, l'application de 10 chiffres significatifs dans le cadre des calculs apparaît tout à fait suffisante. Par conséquent, la table d'étalonnage et les autres tables présentent 10 chiffres significatifs au maximum.

Si des calculs externes (manuels) sont requis au titre de la validation, il est recommandé d'utiliser tous les chiffres exploités dans le cadre des calculs en interne. Le fait d'utiliser des données arrondies et/ ou affichées dans le cadre des calculs en externe peut fournir des résultats différents par rapport à ceux générés par la ChemStation, en raison des erreurs nées de l'arrondissement des valeurs.

Le paragraphe suivant décrit la manière d'accéder aux chiffres stockés en interne qui composent les nombres généralement requis dans les calculs manuels. Dans tous les cas, un fichier de données doit être chargé et faire l'objet d'un rapport adéquat avant toute exécution d'une commande. Toutes les commandes sont saisies au niveau de la ligne de commande de la ChemStation

que vous pouvez activer dans le menu View (Affichage). Affichez les informations contenues dans le fichier « C:\CHEM32\TEMP.TXT » en utilisant NOTEPAD ou un éditeur de TEXTE adapté.

Données brutes de pic :

- Temps de rétention
- Aire
- Hauteur
- Largeur (intégrateur)
- Symétrie
- Heure de début du pic
- Heure de fin du pic

Utilisez l'entrée de ligne de commande suivante :

DUMPTABLE CHROMREG, INTRESULTS, "C:\CHEM32\1\TEMP\
INTRES.TXT"

Données de pic traitées :

- Temps de rétention mesuré
- Temps de rétention attendu
- Aire
- Hauteur
- Largeur (intégrateur)
- Symétrie
- Hauteur à mi-hauteur – mi-largeur (Performances et performances étendues)
- Facteur de traîne (Performances et performances étendues)
- Sélectivité (Performances et performances étendues)
- K` (Performances étendues)
- Largeur de pic tangentielle (Performances étendues)
- Asymétrie (Performances étendues)
- Plateaux théoriques – Mi-largeur (Performances et performances étendues)
- Plateaux théoriques – Intégration tangentielle (Performances étendues)

- Plateaux théoriques – 5-Sigma (Performances étendues)
- Plateaux théoriques - Statistiques (Performances étendues)
- Résolution – Mi-largeur (Performances et performances étendues)
- Résolution – Intégration tangentielle (Performances étendues)
- Résolution – 5-Sigma (Performances étendues)
- Résolution - Statistiques (Performances étendues)

Utilisez l'entrée de ligne de commande suivante :

DUMPTABLE CHROMRES, PEAK, "C:\CHEM32\1\TEMP\PEAK.TXT"

Informations traitées relatives au composé :

- Quantité calculée

Utilisez l'entrée de ligne de commande suivante :

DUMPTABLE CHROMRES, COMPOUND, "C:\CHEM32\1\TEMP\COMPOUND.TXT"

Informations relatives à la table d'étalonnage :

- Nombre de niveaux
- Quantité
- Aire
- Hauteur

Utilisez l'entrée de ligne de commande suivante :

DUMPTABLE _DAMETHOD, CALPOINT, "C:\CHEM32\1\TEMP\CALIB.TXT"

Informations sur la régression linéaire :

- Intersection Y (ParmCourbe1)
- Pente (ParmCourbe2)
- Coefficient de corrélation

Utilisez l'entrée de ligne de commande suivante :

DUMPTABLE _DAMETHOD, PEAK, "C:\CHEM32\1\TEMP\REGRESS.TXT"

12
Vérification du système

Vues Verification (Vérification) et Diagnosis (Diagnostic) 278
Vérification du système 278
Registre GLPsave 282
Fonction de test DAD 284
Fonction Review DAD Test 284

Ce chapitre décrit la fonction de vérification et les fonctionnalités BPL de la ChemStation.

Vues Verification (Vérification) et Diagnosis (Diagnostic)

Si l'instrument configuré prend en charge, par exemple, les modules Agilent série 1100/1200 pour CPL, la ChemStation propose deux vues supplémentaires afin de réaliser des opérations de vérification et de diagnostic des instruments. Pour plus d'informations, reportez-vous à l'aide en ligne.

Vérification du système

La vérification du système est essentielle dans le cadre de l'utilisation de routine d'un instrument d'analyse au sein d'un laboratoire réglementé. Les fonctionnalités de vérification des BPL de la ChemStation sont conçues pour vous aider à démontrer que le logiciel, ou un composant particulier du logiciel, fonctionne correctement, ou du moins qu'il fonctionnait correctement au moment d'une analyse donnée.

La fonction de vérification de la ChemStation vous permet de vérifier le fonctionnement correct du logiciel ChemStation. Pour ce faire, vous pouvez retraiter les fichiers de données selon des méthodes spécifiques avant de comparer les résultats avec une norme prédéfinie. La fonction de vérification revêt un intérêt tout particulier lorsqu'il s'agit de faire la preuve de l'intégrité des résultats d'intégration et de quantification.

Le test de vérification standard est à votre disposition mais vous êtes libre de créer vos propres tests à partir de vos méthodes et fichiers de données, afin de vérifier les combinaisons logicielles algorithmiques utilisées par vos méthodes d'analyse. Le test de vérification est un fichier protégé. Il est donc impossible de le modifier ou de le supprimer.

La zone Verification (Vérification) de la vue Data Analysis (Analyse de données) permet de sélectionner les options suivantes :

- Lancer un test de vérification dans la base de données
- Définir un nouveau test de vérification et l'ajouter à la base de données
- Supprimer un test de vérification de la base de données

La section procédurale du système d'aide en ligne décrit la procédure à suivre pour réaliser ces tâches. Dans le cadre d'un test de vérification de la ChemStation, vous pouvez exécuter le test dans son intégralité ou sélectionner certaines opérations uniquement.

Les résultats du test de vérification sont enregistrés au format binaire dans le sous-répertoire par défaut : c:\CHEM32\1\Verify, avec la méthode et les fichiers de données. Le sous-répertoire Verify se trouve au même niveau que les sous-répertoires de la séquence, des méthodes et des données. Vous pouvez envoyer les résultats à une imprimante ou à un fichier. Les résultats du test, qui incluent les résultats de plusieurs tests de vérification combinés, sont classés en fonction de leur réussite ou de leur échec.

Les composants de test de vérification suivants sont disponibles :

Electronique numérique (détecteur à barrette de diodes Agilent série 1100/1200 seulement)

Un chromatogramme de test est stocké dans le détecteur à barrette de diodes. Ce chromatogramme est envoyé à la ChemStation une fois que les étapes de traitement préalable relatives aux données brutes provenant des photodiodes lui ont été appliquées. Les données résultantes sont ensuite comparées aux résultats d'origine stockés dans la ChemStation pour ce chromatogramme de test. Le test échoue si des différences sont détectées. Ce test permet de garantir que les composants électroniques du détecteur à barrette de diodes qui assurent le prétraitement des données fonctionnent toujours parfaitement. Etant donné qu'un chromatogramme de test enregistré est utilisé, la lampe ou la barrette de diodes n'est pas concernée par ce test. Pour les vérifier, utilisez la fonction de test DAD « Fonction de test DAD », page 284.

Intégration des pics

Le fichier de données est intégré de nouveau conformément à la méthode d'origine. Les résultats sont comparés aux résultats d'intégration d'origine stockés dans le registre de vérification. Le test échoue si des différences sont détectées.

Quantification de composés

Les composés indiqués dans le fichier de données sont de nouveau quantifiés. Les résultats sont comparés aux résultats de quantification d'origine stockés dans le registre de vérification. Le test échoue si des différences sont détectées.

Impression de rapports

Le rapport d'origine est de nouveau imprimé.

La page suivante présente un exemple de test de vérification réussi.

```
================================================================
        ChemStation Verification Test Report
================================================================
Tested Configuration:
   Component                        Revision
----------------------------------------------------------------
  ChemStation for LC 3D ChemStation   B.01.01
  Microsoft Windows                      Microsoft Windows XP
  Processor                          Processor_Architecture_Intel
  CoProcessor                        yes

ChemStation Verification Test Details:
  Test Name : C:\CHEM32\1\VERIFY\DEFAULT.VAL
  Data File : C:\CHEM32\1\VERIFY\DEFAULT.VAL\VERIFY.D
  Method    : C:\CHEM32\1\VERIFY\DEFAULT.VAL\VERIFY.M
  Original Datafile              : VERIFY.D
  Original Acquisition Method    : VERIFY.M
  Original Operator              : Hewlett-Packard
  Original Injection Date        : 4/16/93 11:56:07 AM
  Original Sample Name           : Isocratic Std.

Signals Tested:
  Signal  1: DAD1 A, Sig=254,4 Ref=450,80 of VERIFY.D

ChemStation Verification Test Results:

  Test Module            Selected  For Test     Test Result
  ------------------------------------------------------------------
  Digital electronics test   No                    N/A
  Integration test          yes                   Pass
  Quantification test       yes                   Pass
  Print Analytical Report    No                   N/A

ChemStation Verification Test Overall Results:     Pass
```

Registre GLPsave

Le registre GLPsave est enregistré au terme de chaque analyse lorsque cette option est sélectionnée sur la liste de vérification de l'exécution. Il contient les informations suivantes :

- les signaux,
- le journal,
- la table des résultats d'intégration,
- la table des résultats de quantification,
- les données de performance de l'instrument,
- la méthode d'analyse des données.

Ce registre est protégé dans son intégralité et généré lors de l'analyse. Vous pouvez le récupérer à tout moment pour servir de preuve quant aux méthodes analytiques utilisées.

L'option de registre GLPsave de la vue Data Analysis (Analyse de données) vous permet de consulter à tout moment le fichier de registre GLPsave. Ce fichier est protégé par un total de contrôle et il est crypté en code binaire afin d'empêcher toute modification.

Dans la boîte de dialogue utilisée pour sélectionner le registre GLPsave à consulter, vous pouvez sélectionner les options de révision suivantes :

- charger la méthode d'origine,
- charger les signaux d'origine,
- charger les données de performance d'instrument,
- imprimer la méthode d'origine,
- imprimer les résultats d'intégration d'origine,
- imprimer les résultats de quantification d'origine,
- générer un rapport initial à partir des signaux et de la méthode d'origine.

Vous pouvez utiliser la fonctionnalité de révision des BPL pour prouver que les données chromatographiques sont les données d'origine, pour démontrer la qualité de l'analyse à partir des données de performance de l'instrument et pour attester de l'authenticité de l'interprétation des données.

Par exemple, vous pouvez :

- recharger et réimprimer l'analyse des données utilisée dans la méthode au moment de l'analyse d'échantillon afin de prouver que l'évaluation des données présentées dans les résultats de l'analyse n'a pas été modifiée,
- passer en revue, sans les recalculer, les résultats d'intégration et de quantification afin d'attester de l'authenticité du rapport.

Fonction de test DAD

Les tests de détecteur peuvent s'inscrire dans le cadre de la validation de système de routine d'un instrument analytique dans un laboratoire réglementé.

Le test DAD vérifie les performances du détecteur à barrette de diodes. Ce test, disponible dans le menu Instrument (uniquement pour les unités CPL 3D et EC), vérifie l'étalonnage de longueur d'onde et d'intensité de l'instrument. Lorsque vous cliquez sur Save (Enregistrer), les résultats du test sont automatiquement enregistrés dans la base de données DADTest et un fichier de registre appelé DADTest.Reg est stocké dans le répertoire d'instrument par défaut.

Fonction Review DAD Test

L'option **Review DAD Test** du menu de la vue **Data Analysis** vous permet de consulter à tout moment le fichier DADTest.Reg. Ce fichier est protégé par une somme de contrôle et est crypté en code binaire afin d'empêcher toute modification.

Vous pouvez examiner les parties suivantes du test DAD :

Show Holmium Spectra Trace tous les spectres d'holmium répertoriés dans la table **DAD Test Review**. Le spectre actif est désigné par une balise.

Show Intensity Spectra Trace tous les spectres d'intensité répertoriés dans la table **Review DAD Test** . Le spectre actif est désigné par une balise.

Save as New Database Si vous changez la lampe du détecteur à barrette de diodes (DAD), vous pouvez réinitialiser le DADtest en supprimant les résultats de test non souhaités de la table, puis en utilisant la fonction **Save as New Database**.

Show Selected Spectra Affiche uniquement les spectres que vous sélectionnez dans la table.

Show Intensity Graph Vous pouvez tracer un graphique d'intensité afin d'obtenir une indication de la durée de vie de la lampe du détecteur à barrette de diodes. Ce graphique trace l'intensité maximale de la lampe en fonction du temps.

Glossaire d'IU

Moment
Moment

A

Area reject
Aire de rejet
Area%
% aire
Autointegrate
Intégration automatique

C

Calibration Settings
Paramètres d'étalonnage
Character
Caractère
Compound Details
Caractéristiques de composé
Contents
Contenu

D

DAD Test Review
Examen du test DAD
Data Analysis
Analyse de données
Detail
Détail
Detail + Spectrum
Détail + Spectre

E

ESTD%
% ESTD
Extended Performance
Performances étendues

F

Full
Complet

G

GLP + Short
BPL + Court
GLP + Detail
BPL + Détail

H

Header + Short
En-tête + Court
height reject
hauteur de rejet
Height%
Height% (% hauteur)

I

Initial peak width
Largeur de pic initiale
ISTD%
ISTD% (% ISTD)

N

None
Aucun
Norm%
% norm

P

Path
Chemin
peak width
largeur de pic
Performance
Performances
Performance + Extended
Performances + Étendu
Performance + Library Search
Performances + Recherche en bibliothèque
Performance + Noise
Performances + bruit
Performance and Noise style
Performances et bruit

Q

Quantification Parameters
Paramètres de quantification

R

Review DAD Test
Examen du test DAD

S

Sample Information
Informations d'échantillon
Save as New Database
Enregistrer en tant que nouvelle base de données

Sequence Parameters
Paramètres de séquence
Short
Court
Short + Spectrum
Court + Spectre
shoulder detection
Détection d'épaulement
Slope sensitivity
Sensibilité de pente
Standard Performance report
Rapport de performances standard
Status
Etat

T

Tail Skim Height Ratio
Rapport traîne / hauteur d'approximation

U

Unique Folder Creation ON
Mode Création de dossiers uniques activé

V

Valley
Vallée
Valley Height Ratio
Rapport hauteur /vallée

Index

A

absolu
  temps de rétention 142
acquisition de données
  définition 66
aire de pic 109
aire de rejet 112
ajustement
  courbe 161
analyse de données
  rapports spécifiques 24
analyse
  exactitude 168
aptitude du système
  statistiques incluses 250
aptitude du systèm
  limites 251
attribution de la ligne de base 81, 96
automatisation 171

B

bonnes pratiques de laboratoire 29

C

calcul
  étalonnage externe 128
  normalisation 131
  symétrie de pic 258
ChemStation
  personnalisation 27
commande de l'instrument
  réseau 33
Composé 152
configuration 15
construction de ligne de base 96
courbe d'étalonnage
  ajustement 161, 161
  définition 154
  description 154
  multiniveau 158
  pondération des points d'étalonnage 162
  simple 157
  zéro (origine) forcé 161
courbe
  ajustement 161
  étalonnage 154

D

dérivée 88
détection d'épaulement 112
détermination du bruit ASTM 255
détermination du bruit 255
distribution t 270

É

échantillon inconnu 156
échantillon
  étalon 152
  inconnu 156

E

encadrement
  étalonnage cyclique 208

É

épaulement 94
étalonnage cyclique
  encadrement 208
étalonnage externe
  calcul 128
  procédure 128
étalonnage multiniveau 158
étalonnage
  composé 152
  courbe 154
  échantillon 152
  externe 128
  multiniveau 158
  niveau 152
  paramètres 135
  point 152
événements d'intégration 79, 112

E

exactitude
  analyse 168

F

facteur de dilution 129
facteur de traîne USP 264
facteur de traîne 264
fenêtre de référence 143
fenêtre temporelle
  rétention/migration 142
fenêtres de temps de rétention 143
fichier de méthode
  paramètres d'instrument 55
fichier
  méthode 55
filtre
  reconnaissance de pic 88

formats de fichier
rapport de lots 230
rapport de résultats 242
formule
définition des tests de performances 262
formules de conformité du système
facteur de traîne USP 264
largeur de pic 264
nombre de plateaux 265

G

graduations 76
groupage 89

H

hauteur de rejet 112, 113

I

IC 270
Intégration manuelle 118
intégration tangentielle 101
intégration
graduations 76
intervalle de confiance 270

L

largeur de pic initiale 112
largeur de pic
à la hauteur x% 264
tangente 264
ligne de base initiale 79, 80
limites quantitatives 158

M

méthode
définition 45
exécution 56
modifier 53
répertoire 55
multiniveau
étalonnage 158
multiples
pics de référence 146
multiplicateur 129

N

nombre de plateaux 265
norm%
rapport 131
normalisation
calcul 131

O

optimisation de l'intégration 114
origine
connecter 161
forcer 161
ignorer 161
inclure 161
traitement 161

P

pénétration de la ligne de base 98
performances
définition des tests 262
personnalisés
rapports 25
pic de solvant 110
pic négatif 82
pic
fenêtre de temps de rétention 143
quantification 122, 146
réponse 146
pics de référence
multiples 146
Pics non attribués 106
pic
symétrie 258
pondération
linéaire 162
points d'étalonnage 162
quadratique 162
uniforme 162
Préférences 37
présentation du logiciel
configuration du système 15
méthodes et séquences 15
système d'exploitation 15

Q

qualificateurs 146
quantification
définition 122
étalonnage externe 128

R

rapport de lot
formats de sortie 230
rapport
formats de fichier 242
personnalisé 25
récapitulatif de séquence 25
rapports de conformité du système 24
performances étendues 25
rapport de performances 24
style performances et bruit 24
rapports de tableaux 26
rapports
conformité du système 24
rapport
style 238
tableau 26
reconnaissance de pic
filtre 88
réétalonnage

définition 168
justification 168
répertoire
méthode 55
structure 37
réponse de détecteur 157
réponse
détecteur 157
rapport 146
résidu
écart type 155
relatif 155

S

sensibilité de pente 112
séquence
création 182
définition 174
enregistrement 182
modifier 182
signal analogique 66
signal numérique 66
signal
analogique 66
détails 47
numérique 66
sommet de pic 93
sommet 79

T

table de lots
configuration 226
génération de rapport 230
type d'échantillon supprimé 226
temps de début 79
temps de fin 79
temps de rétention
absolu 142

www.agilent.com

Contenu de ce manuel

Ce manuel décrit les différents concepts du logiciel Agilent ChemStation. Il a pour objectif de vous aider à mieux comprendre son fonctionnement.

Pour plus d'informations sur l'utilisation du logiciel ChemStation, reportez-vous au système d'aide et au didacticiel en ligne.

© Agilent Technologies 2004, 2005-2008

Printed in Germany
07/08

G2070-93125

Agilent Technologies